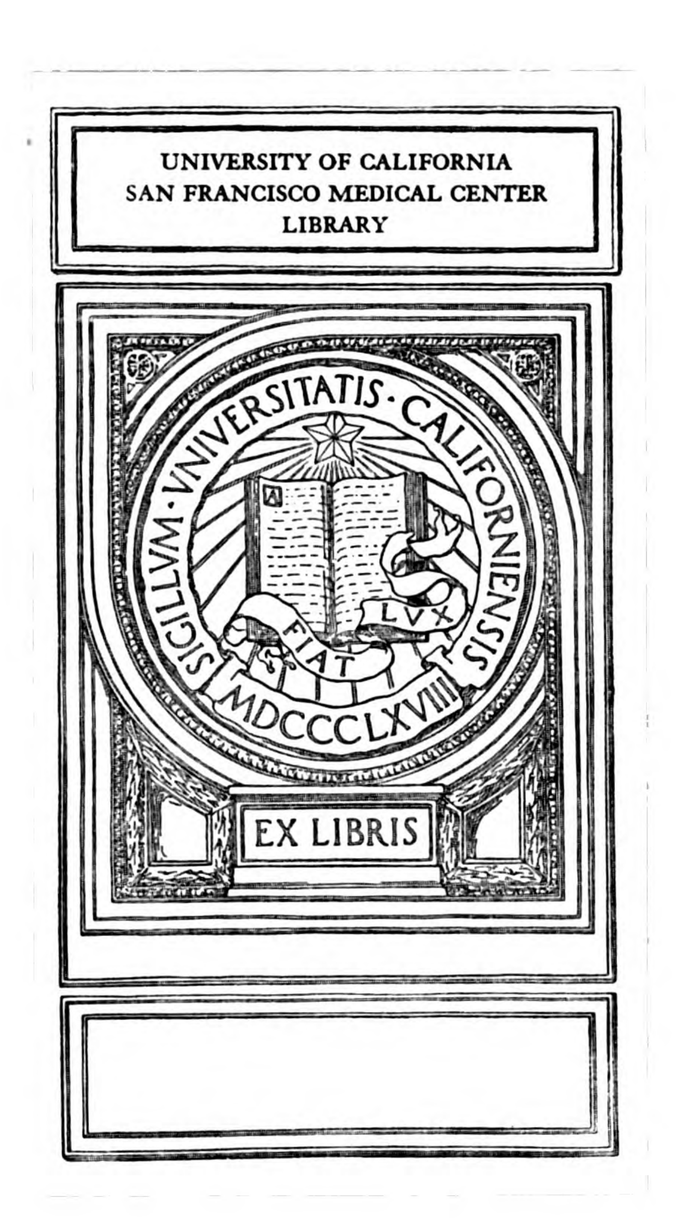



UNIVERSITY OF CALIFORNIA
SAN FRANCISCO MEDICAL CENTER
LIBRARY
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFEKTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE, UND PROF. DR. G. GAFFKY,

GEH. MEDIZINALRAT UND DIREKTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTS DER UNIVERSITÄT BERLIN,

GEH. OBERMEDIZINALRAT UND DIREKTOR DES KÖNIGLICHEN INSTITUTS FÜR INFEKTIONSKRANKHEITEN „ROBERT KOCH“ ZU BERLIN.

FÜNFUNDSIEBZIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ZWEI TAFELN.



LEIPZIG

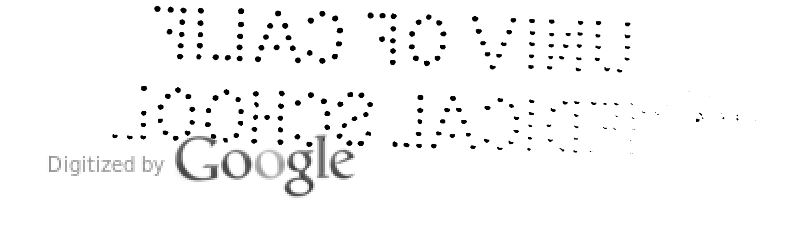
VERLAG VON VEIT & COMP.

1913





Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.





[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Prof. Dr. Flügge.)

Ein Beitrag zur Kenntnis der reduzierenden Wirkungen der Bakterien.

Von

Dr. **Oberstadt,**
Assistenten am Institut.

Das Reduktionsvermögen der Bakterien ist eine ihrer am längsten bekannten Eigenschaften und daher schon häufig Gegenstand der Erörterung gewesen. Sind uns die Reduktionsprozesse, wie sie die meisten innerhalb der Zellen sich abspielenden synthetischen Vorgänge darstellen, in ihrem Verlauf auch noch fast unbekannt, so sind doch andererseits die Reduktionen einfacherer Körper, wie sie im Stoff- und Kraftwechsel der Bakterien vorkommen, durch eifriges Studium unserem Verständnis schon wesentlich näher gerückt. Dahin gehören die Reduktion der Nitrate und Nitrite, dahin die der Sulfate, Sulfite sowie des freien Schwefels, dahin die einzelner Metallverbindungen wie die der selenig- und tellurigsauren Salze, dahin endlich die der verschiedensten Farbstoffe.

Namentlich die Reduktion der letzteren hat zu reichlichen Nachforschungen Anlaß gegeben, da sie ein sinnfälliges Bild des Bakterienlebens liefert, und da man hoffte, auf diesen sinnfälligen Erscheinungen entscheidende Diagnosen aufbauen zu können. Haben sich nun freilich diese Hoffnungen als trügerisch erwiesen, so haben doch die dahin zielenden Bestrebungen dazu beigetragen, unsere Kenntnisse von der Biologie der Bakterien und der lebenden Zellen überhaupt erheblich zu erweitern.

Namentlich die sich bei diesen Forschungen ergebende Frage nach der Art des Zustandekommens der Reduktionserscheinungen hat Veranlassung gegeben, dem physiologischen Verhalten der Bakterienzelle näher

zu treten. Die Versuche, die gemacht wurden, um diese Frage zu lösen, haben zwar äußerst wertvolle Aufschlüsse gegeben, doch stehen einwandfreie Erklärungen über die Art der die Reduktion bedingenden Stoffe noch aus, und selbst die oft behandelte Frage, ob die Reduktion der Farbstoffe in- oder außerhalb der Zelle stattfindet, bedarf noch der Erörterung.

Diese beiden Punkte habe ich nun zum Gegenstand meiner Untersuchungen gemacht und will hierüber die Resultate berichten.

Zuvor sollen nur kurz die Ergebnisse der Untersuchungen mitgeteilt werden, die ich zwecks Prüfung der später zur Verwendung gelangten sterilen Medien hinsichtlich ihres Reduktionsvermögens angestellt habe.

Auf die reduzierende Wirkung steriler Bouillon hat zuerst Th. Smith aufmerksam gemacht, nachdem zuvor Spina auf die reduzierende Wirkung der Nährgelatine hingewiesen hatte, während er eine solche in Nähragar nicht konstatieren konnte. Smith betont, daß die reduzierende Kraft steriler Bouillon nur bei Gegenwart von Fleischzucker oder anderer reduzierender Zuckerarten in die Erscheinung tritt und durch Zusatz von solchem noch erhöht werden kann. Eine Untersuchung der einzelnen Bestandteile der Bouillon auf Reduktionsvermögen wurde nur von Fr. Müller vorgenommen, der feststellte, daß Kochsalz, Pepton, Gelatine und Agar beim Kochen mit Methylenblau nicht reduzierend wirkten, wohl aber die mit Fleischwasser zusammengesetzten genannten Bestandteile. Die demonstrative Art, wie Reduktion von Farbstoffen, sei es durch sterile Nährlösungen oder sei es durch Bakterienkulturen bei Anwendung des Smithschen Gärkölbchens auch bei schwacher Reduktionskraft in die Erscheinung tritt, veranlaßte mich, mich dieses einfachen Verfahrens, das auch gestattet, längere Zeit hindurch die reduzierende Wirkung von Lösungen abzuwarten, ohne die nachteilige Wirkung des Luftsauerstoffs befürchten zu müssen, zur Prüfung der verschiedenen Bouillonarten und deren einzelnen Bestandteile, sowohl steril als auch unter dem Einfluß der Bakterien, zu bedienen. Ich habe nun die einzelnen Bestandteile der Bouillon unter Hinzuziehung von Zuckerlösungen und vergorenem Fleischwasser, sowie deren Kombinationen im Gärkölbchen auf Reduktionsvermögen geprüft, und die Resultate sind in der untenstehenden Tabelle verzeichnet.

Das Gärkölbchen in der Smithschen Ausführung ist in Deutschland so wenig eingebürgert, daß ich hier die Haupteigenschaften, die es von den für chemische bzw. gasanalytische Zwecke üblichen Gärröhrchen unterscheiden, noch einmal kurz hervorheben möchte.

Für bakteriologische Zwecke ist es einmal nötig, daß der offene Schenkel so weit ist, daß er außer seinem Inhalt auch noch die Gesamtmenge der

im geschlossenen Schenkel befindlichen Flüssigkeit aufnehmen kann, damit ein Durchmischen der Flüssigkeit aus beiden Schenkeln bei etwaigen Zusätzen möglichst bequem geschehen kann, ohne daß der Stopfen dabei benetzt wird. Ferner darf der Winkel, den beide Schenkel miteinander bilden, nicht zu spitz sein, muß nach meinen Erfahrungen etwa 50° betragen, außerdem muß der untere Teil des geschlossenen Schenkels konisch zulaufen i. e. darf nicht abgesetzt sein, da sich sonst die Luft bei dem Versuch sie aus dem geschlossenen Schenkel durch Neigen herauszubringen, hinter dem Vorsprung der Wand festsetzt und nur unter Benetzung des Stopfens herausgebracht werden kann. Ferner darf der bauchige Teil nicht kugelig sein, sondern ist am vorteilhaftesten birnförmig gegen die Öffnung hin erweitert.

Die von mir benutzten Kölbchen waren so groß, daß der geschlossene Schenkel 15 ccm. der offene 30 ccm fassen konnte. Geprüft wurden immer

Tabelle I.

Reduktion durch sterile Nährbödenbestandteile.

30 ccm Lösung + 1·2 mg Methylenblau.

Lösung		Reduktion nach	Reaktion beim Ansetzen der Probe
Kochsalzlösung	0·5 proz.	—	neutral
Dextroselösung	0·2 „	—	0·05 Proz. acid.
„	1·0 „	—	0·05 „
Dextrose-Kochsalzlösung	0·2 „	—	0·1 „
„ „	1·0 „	—	0·1 „
Peptonlösung	1·0 „	8 Tagen	0·4 „
„	1·0 „	2 „	neutral
„ 1 proz. + Dextrose	0·2 „	4 „	0·4 Proz. acid.
„ 1 „ + „		20 Stunden	neutral
„ zusammen sterilisiert		24 „	0·6 Proz. acid.
„ 1 proz. + Dextrose	1·0 „	16 „	0·6 „
Fleischwasser, unvergoren		2 Tagen	0·6 „
„ vergoren		—	0·6 „
„ unvergoren + Pepton	1·0 „	3 Tagen	0·6 „
„ vergoren + „		—	0·6 „
„ unvergoren + Kochsalz . . .	0·5 „	2 Tagen	0·6 „
„ vergoren + „ . . .		—	0·6 „
Bouillon aus unvergorenem Fleichwasser . .		3 Tagen	0·5 „
„ „ vergorenem „ . .		—	0·5 „
„ „ unvergor. Fleischw. + Dextrose	0·2 „	24 Stunden	0·5 „
„ „ vergor. „ + „	0·2 „	16 „	0·5 „
„ „ unvergor. „ + „	1·0 „	2 Tagen	0·5 „
„ „ vergor. „ + „	1·0 „	24 Stunden	0·4 „

30 ccm Flüssigkeit unter Zusatz von 0·2 ccm steriler konzentrierter wässeriger Methylenblaulösung (Kahlbaum) — entsprechend 1·2 mg Methylenblau pulv. Grübler — der immer nach erfolgter Sterilisation der Nährlösung erfolgte. Die Aufbewahrung geschah bei 37°. Da die Reaktion von bedeutendem Einfluß auf die Reduktion ist, wurde immer in einem Kontrollröhrchen die Reaktion der 1 Minute lang gekochten und noch heißen Flüssigkeit bestimmt durch Titrieren mit n/20 NaOH und Phenolphtalein als Indikator.

Zu der Tabelle sei bemerkt, daß die Vergärung des Fleischwassers nach Smiths Angaben in der Weise erfolgte, daß 1 Liter, mit 100 ccm 24 stündiger Colibouillonkultur versetzt, 10 Stunden bei 37° gehalten, dann nach Zusatz von getrocknetem Hühnereiweiß gekocht und filtriert wurde.

Es ergibt sich aus der Tabelle I, daß 1 prozentige Peptonlösung und unvergorenes Fleischwasser reduzierend wirken, nicht aber NaCl-Lösung, Dextroselösung und vergorenes Fleischwasser. Es zeigt sich ferner, daß Zusatz von Pepton, das für sich allein reduzierend wirkt, zu vergorenem Fleischwasser diesem keine reduzierende Kraft verleiht, wohl aber die natürliche Säure des letzteren erheblich herabsetzt, ein Vorgang, den Timpe auf chemische Bindung des Peptons zurückführt.

Zu unvergorenem Fleischwasser hinzugefügt verzögert Pepton sogar die Reduktion.

Zusatz geringer Zuckermengen zu vergorenem Fleischwasser oder vergorener Fleischwasserbouillon vermag dieser, ganz besonders wenn mit ihr zusammen sterilisiert, eine noch höhere Reduktionskraft zu verleihen, als die unvergorene besitzt. Bei Zusatz größerer Zuckermengen nimmt dieselbe wieder ab. Auf diese beiden Tatsachen hat übrigens schon Th. Smith aufmerksam gemacht.

Ebenso wird die Reduktionskraft der Peptonlösung durch Zusatz geringer Zuckermengen gesteigert, bei Zusatz größerer Mengen wieder herabgesetzt. Auch hier tritt die Reaktion in viel höherem Maße auf, wenn Pepton- und Zuckerlösung zusammen sterilisiert wurden.

Kochsalzzusatz ist ohne Einfluß auf die Reduktion.

In den mit 0·1 Prozent und 1·0 Prozent Zucker versetzten Peptonlösungen trat bis zum Eintritt der Reduktion des Methylenblau auch eine geringe Säurebildung auf; die Azidität stieg bei ersterer um 0·1 Prozent n/1 NaOH, bei letzterer um 0·2 Prozent n/1 NaOH, während die Azidität der Kontrollen die gleiche blieb. Diese Steigerung der Azidität kann nur auf die Oxydation des Zuckers bezogen werden.

Sodann wurden die verschiedenen Bouillonsorten auf Reduktionsvermögen geprüft und folgende Resultate erhalten.



Tabelle II.
Sterile Bouillon aus unvergorenem Fleischwasser, Liebig-Extrakt, Armour-Extrakt.

	Fleischwasser	Liebig-Extrakt	Armour-Extrakt
Reduktion in Tagen	3	10	10
Azidität:	0·6 Proz.	0·55 Proz.	0·4 Proz.

Nach dem angeführten ist es höchstwahrscheinlich, daß der in dem gewöhnlichen Fleischwasser vorhandene Zucker es ist, der in der Bouillon reduzierend wirkt, und in der Tat zeigt sich bei der Vergärung der einzelnen Bouillonarten durch Bakterium Coli in Gärkölbchen in der Fleischwasserbouillon Säure- und Gasbildung und zwar um so stärker, je rascher in der entsprechenden sterilen Bouillon Reduktionserscheinung auftritt, während diese Gärungsprodukte in Liebig- und Armour-Extraktbouillon ausbleiben. Die nach 10 Tagen in den letzteren auftretende Reduktion ist wohl auf geringste Spuren Zuckers zurückzuführen, bei deren Gärung die entstehenden geringen Gasmengen in der großen Menge Nährflüssigkeit absorbiert werden, während die gebildete Säure leicht übersehen werden kann, da die im offenen Schenkel des Kölbchens auftretende alkalische Reaktion schon bald ihren Einfluß auf die Reaktion im geschlossenen Schenkel geltend macht.

Ich gehe nun zu meinem eigentlichen Thema über und will zunächst kurz auf die Literatur, soweit sie die Art des Zustandekommens der Reduktionserscheinungen betrifft, eingehen. Ausführliche Literaturangaben sind vor nicht allzulanger Zeit von Wichern und jüngst von Edwin Broun Fred gemacht worden.

Cahen war der erste, der sich mit der Untersuchung des Reduktionsvermögens der Bakterien näher befaßte. Er fand, daß alle Bakterienarten, die Gelatine verflüssigten, gleichzeitig auch Lackmus reduzierten, und zwar beobachtete er bei einem Teil seiner Kulturen die Reduktion in der verflüssigten Gelatine, bei einem anderen an der Verflüssigungsgrenze, während wenigstens bei manchen Kulturen die verflüssigte Partie durch den Luftsauerstoff bereits wieder die blaue Farbe angenommen hatte.

Er spricht diese Grenzschicht als die Stelle des intensivsten Wachstums an.

Die stark reduzierende Eigenschaft der Anaeroben erklärt sich Cahen so, daß die Anaeroben, die nicht imstande sind, den freien Luftsauerstoff zu verwerten, den bei der Reduktion frei werdenden Sauerstoff in statu nascendi zu ihrem Leben erfordern. Cahen schließt die Abhängigkeit der Reduktionen von der Wachstumsintensität daraus, daß sie am

stärksten eintritt in Bouillon, die den Bakterien die günstigsten Lebensbedingungen bietet, ferner daraus, daß in Milzbrandkulturen die Reoxydation des verwendeten Farbstoffes zusammenfiel mit ausgedehnter Sporenbildung und Nachlaß des Wachstums.

Die Frage, ob die Reduktion eine Funktion des lebenden Protoplasmas ist, wie Ehrlich in ihr eine Haupteigenschaft der pflanzlichen wie der tierischen Zellsubstanz sieht, läßt Cahen offen.

Er läßt die Möglichkeit bestehen, daß die in den Nährlösungen entstehenden Umsetzungsprodukte die Reduktion vermittelten. Einen Einwand gegen letztere Annahme, daß nämlich dann in älteren Kulturen reduzierende Stoffe in größerer Menge vorhanden sein müßten, widerlegt er selbst, indem er anführt, daß die reduzierenden Stoffe sich sofort, nachdem sie entstanden, wieder oxydierten. Daß durch Abtöten der Bakterien durch $^1/_2$ stündiges Erhitzen auch das Reduktionsvermögen zerstört wurde, läßt er selbst nicht für einen Beweis der direkten Tätigkeit des Protoplasmas gelten.

Spina bezog die Reduktion auf die lebenden Bakterien und sprach die in den bakterienfreien tieferen Schichten der festen Nährböden auftretende Entfärbung des Methylenblaus als eine „Fernwirkung“ der Bakterien an. Auch beobachtete er schon die reduzierende Wirkung steriler Gelatine, während er sie in sterilem Nähragar vermißte.

Rozsahegyi schreibt die in Bakterienkulturen auftretende Reduktionswirkung Stoffwechselprodukten zu, die auch in die bakterienfreien Teile der festen Nährböden diffundieren, und die bei ihrer reduzierenden Wirkung gewissermaßen aufgebraucht würden.

Nach Th. Smith geht die Reduktionswirkung der Bakterien vom Protoplasma aus und diffundiert nicht in die Umgebung. In Filtraten reduzierender Bakterienkulturen konnte er keine Reduktionskraft nachweisen. Nach ihm besteht hinsichtlich letzterer kein Unterschied zwischen Anaeroben und Aeroben. Die Reduktionswirkung ist abhängig von Zahl und Zustand (Sporen) der Bakterien.

Er erzielte auch Reduktion mit bei niederen Temperaturen (70 bis 73° C. 1 Stunde lang oder 15 Minuten langes Kochen) abgetöteten Aerobenkulturen.

Er hält es für wahrscheinlich, daß die Fähigkeit der Bakterienzelle H_2O_2 zu spalten identisch ist mit der entfärbenden Kraft.

Fr. Müller führt das Fehlen der Reduktion von Lackmus durch bei 37° gehaltene Prodigiosusbazillen, ebenso wie die bei dieser Temperatur ausbleibende Farbstoffbildung auf eine Abnahme der Stoffwechselenergie zurück, die sich in einem spärlicheren Wachstum zeigt.

Nach Müller ist der Grad der Reduktion abhängig von der Fortpflanzungskraft, außerdem aber bei verschiedenen Bakterienarten verschieden je nach der verschiedenen Art ihres Stoffwechsels.

Er schließt aus der Reduktion des Methylenblau in Schrägagar durch Strichkulturen auf Stoffwechselprodukte als wirksames Agens. Seine anfängliche Annahme, daß die Stoffwechselprodukte nur in statu nascendi reduzierend wirkten, gibt er auf in Anbetracht dessen, daß die nach Reoxydation rasch wieder eintretende Reduktion selbst in älteren Kulturen, die keine lebenskräftigen Individuen (Involutionsformen) enthalten, nicht auf neu gebildeten Stoffwechselprodukten beruhen kann.

Die quantitativen und qualitativen Unterschiede in der Reduktionsgröße verschiedener Arten führt er nicht auf verschieden intensives Wachstum, sondern auch auf qualitativ verschiedene chemische Beziehungen zwischen Bakterien und Farbstoffen zurück. Jedoch wurden Keimzählungen nicht gemacht, und auch ist die Reaktion der Nährböden, die doch eine außerordentlich große Rolle bei der Reduktion spielt, nicht erwähnt.

Alf. Wolff wies auf die Spezifität reduzierender Eigenschaften verschiedener Bakterienarten gegenüber verschiedenen Farbstoffen hin. Nach ihm wird Orcein durch Bacterium typhi stärker reduziert als durch Bacterium coli.

Klett stellte fest, daß das Reduktionsvermögen der Bakterien gegenüber natrium selenosum und tellurosum an die Bakterienzelle und nicht an die Stoffwechselprodukte geknüpft ist.

Doch erklärt er selbst auf Grund seiner Versuche nicht prinzipiell ein allgemeines Gesetz für das Verhalten der Bakterien gegenüber reduzierbaren Substanzen aufstellen zu wollen. Er schließt also ein Nebenhergehen von anderen Reduktionsvorgängen nicht aus.

Scheuerlen und Beyerinck beobachteten das gleiche Verhalten von Bakterienkulturen gegenüber telluriger- und Tellursäure.

Cathcart und Hahn gingen bei ihren Studien über das Reduktionsvermögen der Bakterien von vornherein von der Absicht aus, nachzuweisen, daß und unter welchen Bedingungen die Bakterienleiber Reduktionswirkung entfalten. Zu diesem Zwecke benutzten sie Suspensionen von genau abgewogenen Bakterienmengen. Durch Verwendung solcher war ihnen ein quantitatives Arbeiten ermöglicht, da in der kurzen Zeit bis zum Auftreten der Reduktion keine Vermehrung der Bakterien stattfinden konnte. Außerdem hatten sie die Absicht, Stoffwechselprodukte dadurch zu vermeiden. Auf diese beiden Punkte werde ich noch zurückkommen.

Die Resultate Cathcarts und Hahns waren folgende: Die reduzierende Wirkung der meisten Bakterienarten erlischt bei $^1/_2$ stündigem Erhitzen auf 60°. Bei Bacterium coli stieg bei dieser Vorbehandlung in Suspension



in Bouillon die Reduktionszeit von 5 Min. 10 Sek. auf 7 Min. 40 Sek. Höhere Temperaturen oder Temperaturerhöhung für längere Zeit kamen nicht zur Anwendung.

Das Reduktionsvermögen verschiedener Bakterienarten bei gleichgroßer Bakterieneinsaat in das gleiche Medium und bei Gegenwart gleichgroßer Mengen Methylenblaus war verschieden. Andere Autoren hatten diese Spezifität zwar schon früher festgestellt, doch waren diese Versuche mehr oder weniger nicht einwandfrei, da nicht quantitativ gearbeitet wurde.

Ferner stellten sie in quantitativ ausgeführten Versuchen die schon früher von anderen Autoren erwähnte Abhängigkeit der Reduktionsintensität von der Bakterienmenge fest.

Anaerob gezüchtete Colibazillen wirken in gleicher Menge stärker reduzierend wie aerob gezüchtete.

Salze erwiesen sich ihnen nur bei Gegenwart stickstoffhaltiger Substanzen von Bedeutung auf die Reduktion, und zwar nur im geringem Maße.

Pepton und Albumosen begünstigten die Reduktion nicht wesentlich.

Darauf, daß nach ihrer Ansicht stickstofffreie Substanzen, wie Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin überhaupt nicht die Reduktion begünstigen, werde ich noch zurückkommen. Wohl sprechen sie dem Rohrzucker in hoher Konzentration (50 Prozent) ebenso wie Natriumsulfat in hoher Konzentration konservierende Eigenschaften zu. Sie sind der Ansicht, daß in diesen Suspensionen eine Auslaugung des Protoplamas statthat und so die reduzierenden Substanzen in die Lösung gelangen.

Agglutination schädigte die Reduktionswirkung nicht.

In Trockenpräparaten von nicht mehr vermehrungsfähigen Staphylokokken und Colibazillen in Mengen von 0·2 und 0·4 ^{grm} konnten sie noch, wenn auch stark verminderte Reduktion nachweisen.

Hieraus ziehen sie den Schluß, daß die Reduktionsvorgänge „durch enzymatische Körper hervorgerufen werden, die in ihrem Verhalten und ihrer Wirkung der Zymase nahestehen.“ Diese enzymatischen Körper weisen sie einer besonderen Gruppe zu, die charakterisiert sein soll „1. durch ihre außerordentliche Labilität, 2. durch die Abhängigkeit ihrer Wirkung von der Zusammensetzung ihres Mediums und von ihrer eigenen Konzentration in diesem Medium.“

„Nach den sub 2 genannten Eigenschaften aber ist anzunehmen, daß unter natürlichen Verhältnissen diese Körper nicht als eigentlich gelöst in einer Flüssigkeit zu denken sind, sondern nur auf einen bestimmten Reiz hin, den man sich als einen physikalischen (Osmose?) oder chemischen vorstellen kann, von der Zelle abgeschieden werden, aber in den unmittelbar die Zelle umgebenden Flüssigkeitsteilchen bereits zur Wirkung gelangen und dabei verbraucht werden.“

So willkommen mir diese Hypothese für meine eigene unten zu entwickelnde Anschauung ist, so kann ich doch ihre Folgerung aus den Ausführungen der Autoren nicht verstehen, sie steht vielmehr im Widerspruch mit ihrer erst geäußerten Annahme der enzymatischen intrazellulären Natur dieser Körper. Man sollte nach ihren Ausführungen vielmehr annehmen, daß die Reduktion innerhalb der Zellen stattfinde.

Maaßen konnte nach den Buchnerschen Preß- bzw. Azetonverfahren für den Petrischen Butterbacillus, den Bacillus proteus mirabilis, den Vibrio phosphorescens Dunbar, für Penicillium brevicaule und Hefe nachweisen, daß sie Stoffe enthalten, die Methylenblau, Schwefel, tellurige und selenige Säure reduzieren. Er vermutet, daß die reduzierenden Substanzen die Eigenschaft besitzen, Wasserstoff auf reduzierende Körper zu übertragen, daß man ihnen pseudokatalytische Wirkungen zuschreiben kann i. e. die Fähigkeit molekularen Wasserstoff zu aktivieren. Er spricht die Möglichkeit aus, „daß in den Zellen sich Oxydationsvorgänge abspielen, die ähnlich wie gewisse durch Superoxyde bewirkte Oxydationen unter Bildung von Wasserstoff verlaufen". Die während der Wasserstoffphase entstehenden Zwischenprodukte der Zellsubstanzen würden dann als Körper mit labilem Wasserstoff diesen übertragen.

Er gibt die Möglichkeit zu, daß diese Zwischenprodukte sich wie autoxydable Körper verhalten, und danach wäre die Vermutung nahe gelegt, daß Beziehungen bestehen zwischen den Hydrasen und Oxydasen, deren Identität Höber sogar für möglich hält.

Beiyerinck faßt eine Reihe verschiedener Reduktionen, die er in Desoxydationen und Wasserstoffanlagerungen trennt, zusammen, läßt sich jedoch über die Art der reduzierenden Substanzen nicht aus.

Gosio sowie Gloger behandeln die Reduktion des Kalium tellurosum durch lebende Bakterien mit dem Unterschied, daß Gosio diese Reduktion allen Bakterien zuschreibt, während Gloger feststellte, daß nur solche auf Kalium tellurosum reduzierend wirken, die Schwefelwasserstoff bilden.

Carapelle stellte zunächst fest, daß in Mineralnährböden keine Reduktion durch Bakterien eintrat. In diesen Nährböden verwendete er Ammoniumtartrat als Kohlenstoffquelle. Ferner fand er, daß das Reduktionsvermögen der Bakterien sich änderte mit dem Alter der Kultur. Er gibt folgende Tabelle des Bacterium coli.

Alter:	2 Std.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	7 Tage
Reduktion nach:	21 „	7 Std.	10 Std.	10 Std.	24 Std.	—	—

Bei Zusatz neuer Bouillonmengen mit Farbstoff trat die Reduktion auch in älteren Kulturen ein. Um die Art der reduzierenden Substanz zu ergründen, filtrierte er, wie Smith es schon getan hatte, Bouillon-



kulturen durch Chamberlandfilter, aber weder diese Filtrate noch bakterienfreie Zentrifugate hatten eine reduzierende Wirkung.

Um die reduzierenden Substanzen von den Bakterien zu trennen, beimpfte er Schrägagarröhrchen, auf deren Boden er vorher mit sterilem Methylenblauagar gefüllte Zelluloidinröhrchen suspendiert hatte. Nach 2 Tagen trat innerhalb dieser geringe Reduktion ein. Daraus schließt er auf Stoffwechselprodukte als reduzierende Substanz.

L. v. Liebermann untersuchte das Reduktionsvermögen verschiedener Bakterienarten in bezug auf Oxyhämoglobin und stellte fest, daß alle untersuchten Arten auch auf dieses reduzierend wirkten. Auch bei dieser Reduktion war die Intensität abhängig von der Menge und dem Zustand der Bakterien sowie von der Temperatur.

Auch er schließt wie Rozsahgyi aus dem Farbloswerden des Methylenbauagars in bakterienfreien Teilen der unter Sauerstoffabschluß gehaltenen Schrägagarkulteren auf diffundierende Stoffwechselprodukte als das reduzierende Agens, da nach seiner Meinung das Methylenblau in der kurzen Zeit bis zur Entfärbung desselben nicht bis zur Bakterienschicht diffundieren kann.

Wichern stellte quantitative Untersuchungen an über das Reduktionsvermögen der Typhus-Coli-Gruppe. Er titrierte die Methylenblaumenge mit Titantrichlorid. Er bezeichnet als Reduktionsgröße die von 1000 Keimen in 1 Stunde reduzierte Menge Methylenblau und fand diesen Wert für die Typhus-Coli-Gruppe gleich 28 bis 30 Millionstel Milligramm.

Weiterhin fand er, daß diese Reduktionsgröße und die Generationsdauer von Bacterium typhi und coli im umgekehrten Verhältnis zueinander standen. Auch stellte er Maximalwerte für die Reduktionsgröße fest und fand diese für Coli etwa 43, für Typhus unter 39 Millionstel Milligramm.

Um die Stoffwechselprodukte der Bakterien von diesen getrennt zu erhalten, überschichtete er in 1 Liter-Kolben mit Colibazillen beimpften Agar mit sterilem und konnte in der unter Kohlensäure steril abgeheberten sterilen über die isolierende Agarschicht übergeschichteten und ihrerseits durch Paraffin vor Sauerstoffzutritt geschützten Nährflüssigkeit geringe Reduktion nachweisen.

Kramer stellte nach der von Schultze angegebenen Methode an zahlreichen Bakterienarten außer über Oxydationswirkungen auch über Reduktionswirkungen Untersuchungen an.

Das von Schultze angegebene Reagenz war Paranitrosodimethylanilin gemischt mit α-Naphthol in 1 prozentiger alkalischer Lösung.

Mit dieser Methode konnte er Reduktionserscheinungen bei allen Mikroorganismen außer bei Protozoen nachweisen. Er hält Enzyme für das die Reduktion bewirkende Agens.



Edwin Broun Fred studierte das Reduktionsvermögen von in Milch vorkommenden Bakterienarten. Er konstatierte, daß die in der Milch vorkommenden Bakterienarten besonders stark reduzierten.

Auch stellte er nach der Wichernschen Titrationsmethode in quantitativen Untersuchungen bei diesen Bakterienarten das Parallelgehen der Reduktionsstärke mit dem Wachstum der Bakterien, sowie das gleichzeitige Aufhören beider nach Erschöpfung des Nährbodens fest. Ferner legt er dar, daß die quantitative Reduktion des Methylenblau wechselt mit der Art der Bakterien, daß aber jede Bakterienart ihren bestimmten Reduktionskoeffizienten hat. Aus der Tatsache, daß in sterile Methylenblaulösung enthaltenden Kollodiumsäckchen, die in stark reduzierenden Kulturen suspendiert wurden, nach einiger Zeit Aufhellung der blauen Farbe eintrat, schließt er auf diffundierende reduzierende Stoffwechselprodukte.

Wie wir sehen, herrschen im wesentlichen zwei Anschauungen; nach der einen ist die Reduktion hervorgerufen durch das Protoplasma der Bakterienzellen, nach der anderen durch ausgeschiedene Stoffwechselprodukte. Ueber die Art des Zustandekommens der Reduktion des Methylenblaus bzw. eine Definition der betreffenden Stoffwechselprodukte finden wir nur wenige Vermutungen.

Ich bin geneigt, die Reduktion in den benutzten Suspensionen als Folgen des Kraftwechsels der Bakterien anzusehen und sie den Gärungen an die Seite zu stellen, als deren Vor- und Begleiterscheinungen ich die Reduktionen betrachte.

Daß es Umsetzungen der Nährmedien sind, die als sekundäre Erscheinung die Reduktion der Farbstofflösung zur Folge haben, will ich mich bemühen, im folgenden zu beweisen.

Zur Erklärung meiner Versuchsanordnung seien zuvor einige Erläuterungen gegeben.

Wie in den früheren Versuchen benutzte ich auch zu den folgenden das Smithsche Gärkölbchen wegen seiner einfachen Handhabung und der Unzweideutigkeit der Resultate, die es liefert.

Die Benutzung des Gärkölbchens wurde von Fr. Müller deshalb vermieden, weil die reduzierenden Wirkungen mancher steriler Nährlösungen an sich im Gärkölbchen sichtbar werden und so störend wirken, was im Reagensglas nicht der Fall ist. Diese Gefahr war bei meinen Versuchen nicht zu befürchten, einmal, da ich sterile Kontrollen benutzte, und ferner, da bei der Verwendung größerer Bakterienmengen die Reduktion so rasch erfolgte, daß eine event. reduzierende Kraft der betreffenden Nährlösung noch nicht in Betracht kam. Zudem wirkten diejenigen Lösungen, auf



deren Verwendung es mir hauptsächlich ankam, wie sich aus zahlreichen Kontrollen ergab, auch nach längerer Zeit nicht reduzierend.

Was das Bakterienmaterial angeht, so kam außer in einer Serie von Versuchen nur Bakterium coli zur Verwendung, da die durch Bacterium coli hervorgerufenen Umsetzungen der Nährmedien am besten bekannt sind und zum Teil wenigstens relativ einfache Produkte liefern.

Außerdem konnten schon nach 16 stündiger Bebrütung reichlich gewachsene Kulturen zur Verwendung gelangen.

Was die Art der Verwendung des Bakterienmaterials angeht, so verwendete ich Suspensionen von Agarkulturen, weil in vielen der von mir benutzten Lösungen bei einfacher Beimpfung wegen der mangelhaften oder überhaupt nicht stattfindenden Vermehrung zu wenige Bakterien vorhanden gewesen wären, um ihren Einfluß hinsichtlich Reduktion in sichtbarer Weise geltend zu machen.

Diesen Weg, mit Suspensionen zu arbeiten, haben zuerst Cathcart und Hahn beschritten, einmal um quantitativ arbeiten zu können, indem abgewogene Mengen Bakterienmaterials suspendiert wurden, die auch in der kurzen Zeit bis zur Reduktion sich nicht vermehren konnten, dann aber auch zur Vermeidung von Stoffwechselprodukten. Das letztere war zwar der Fall bezüglich neu zu bildender Stoffwechselprodukte, im übrigen wurden sie aber um so weniger vermieden, je größere Bakterienmengen von den Nährböden übertragen wurden, und je älter die verwendeten Kulturen waren. Cathcart und Hahn benutzten teilweise 2 Tage alte Kulturen.

Nach Möglichkeit suchte ich diesen Übelstand zu vermeiden durch Verwendung von in Kochsalzlösung gewaschenen Bakterien 16 bis 24 stündiger Kulturen.

In den zunächst folgenden Versuchen wurden Schrägagarkulturen, die möglichst große und gleichgroße Oberflächenrasen bildeten, verwendet, von denen je eine gewaschen zu 30 ^{ccm} der betreffenden Suspensionsflüssigkeit zugesetzt wurde. Als Indikator diente auch in diesen Versuchen immer Methylenblau, das in der gleichen Menge, wie in den früheren, i. e. 1·2 ^{mg} Methylenblau Grübler zur Verwendung kam.

Methylenblau hat sich allen früheren Untersuchern als geeignetes Reagens bewährt, so daß hier auf seine Vorzüge und Nachteile nicht eingegangen zu werden braucht.

Das Verhalten der Suspensionen in den Dextroselösungen, denen Cathcart und Hahn einen Einfluß auf die Reduktionswirkung der Bakterien absprechen, veranlaßte mich, mich gerade mit diesen Suspensionen näher zu befassen. Cathcart und Hahn haben zwar in einer ihrer



Tabellen die Reduktion in 10 prozentiger Traubenzuckerlösung durch Bacterium coli angeführt, haben aber diese Tatsache unberücksichtigt gelassen, sogar dienen ihnen gerade diese Tabellen als Beleg für ihre Behauptung, daß stickstofffreie Bestandteile, wie Traubenzucker, Rohrzucker, Glyzerin die Reduktion nicht begünstigen. Nach ihrer Meinung ist vielmehr die reduzierende Tätigkeit der Bakterien an stickstoffhaltige Substanzen geknüpft.

Tabelle III.

Suspensionen von Bacterium coli in sterilisierten Medien.

4000 bis 5000 Millionen Keime in 1 ccm. — 1·2 mg Methylenblau.

Medien		Reduktion nach Minuten	Azidität
Aqua dest.		—	neutral
Kochsalzlösung	0·5 proz.	—	„
Peptonlösung	1·0 „	10	0·6 Proz. acid.
Fleischwasser, unvergoren		5	0·6 „
„ vergoren		10	0·6 „
Gewöhnliche Bouillon		5	0·6 „
Bouillon aus vergorenem Fleischwasser.		10	0·6 „
Dextroselösung	0·2 „	10	0·1 „
„	1·0 „	15	0·1 „
Dextrose-Kochsalzlösung	0·2 „	30	0·1 „
„ „	1·0 „	20	0·1 „
Peptonwasser + 0·2 proz. Dextrose . .		10	0·6 „
„ + 1·0 „ „ . .		15	0·6 „
Zuckerfreie Bouillon + Dextrose . . .	0·2 „	5	0·9 „
„ „ + „ . . .	1·0 „	5	0·9 „

Nun enthielt zwar die zuerst von mir benutzte sogenannte chemisch reine Dextrose Stickstoff in geringen Mengen, aber mit von Stickstoff frei gefundener Dextrose erhielt ich ebenfalls Reduktion und zwar in kaum geringerem Maße. Von der Firma Merck in Darmstadt wurde mir in sehr zuvorkommender Weise stickstofffreier Traubenzucker eigens hergestellt. Daß derselbe tatsächlich keine Spuren von Stickstoff enthielt, davon habe ich mich durch die von Kuhtz festgestellte Tatsache überzeugt, daß bei Gegenwart von Spuren von Stickstoff kleine Bakterienmengen in Zuckerlösungen Gas erzeugen, was in den meinen nicht der Fall war.

Um den Einfluß anderer stickstofffreier Substanzen auf die reduzierende Wirkung der Bakterien zu prüfen, habe ich dann folgende Versuche angestellt:



Tabelle IV.
Verhalten von Bacterium coli zu stickstofffreien und stickstoffhaltigen Salzen.
Suspensionen von 4000 bis 5000 Millionen Keimen.
1·2 mg Methylenblau.

Medien 1 prozentig	Reduktion nach
Ammonium lacticum	30 Minuten
Natrium „	30 „
Calcium „	20 „
Ammonium Tartrat	—
Natrium „	—
Ammonium succin.	30 „
Natrium „	30 „
Ammonium citricum	—
Natrium „	—
Ammonium butyric.	—
Natrium „	—
Ammonium oxal.	—
Natrium „	—
Ammonium acetic.	—
Natrium „	—
Ammonium formic.	15 „
Natrium „	15 „
Calcium „	15 „
Ammonium carbonic.	—
Natrium „	—
Ammonium phosphat 2 basig	—
Natrium „ 2 „	—
Ammonium „ 3 „	—
Natrium „ 3 „	—
Ammonium nitrat	—
Natrium „	—
„ nitrit	—

Auch die bei diesen Versuchen benutzten Natrium- und Calciumsalze waren von der Firma Merck stickstofffrei geliefert. Aus diesen Versuchen geht unzweideutig hervor, daß dem Stickstoff hier keine ausschlaggebende Rolle zukommt, daß er vielmehr ganz entbehrlich ist, solange wir es noch mit lebenskräftigen Keimen zu tun haben. Indirekt spielt er selbstverständlich eine große Rolle, insofern er als Nährstoff unbedingt erforderlich ist, und die Zellen ohne ihn nach kurzer Zeit zugrunde gehen, und damit auch die Reduktionswirkung aufhört.

Während in den bisher aufgeführten Suspensionen je eine Agarkultur benutzt wurde, wurden in den nun folgenden vergleichenden Versuchen



zunächst NaCl-Aufschwemmungen von soviel[1] Agarkulturen in ebensoviel Kubikzentimeter Kochsalzlösung hergestellt, als in dem jeweiligen Versuch Gärkölbchen zur Verwendung kamen. Von diesen Aufschwemmungen aus wurden dann die Versuchsröhrchen mit je 1 ccm beimpft. Auf diese Weise erhielt ich in allen diesen Röhrchen ziemlich genau gleiche Keimzahlen. Als Maßstab für die Stärke der Reduktion wurde die Zeit gewählt, in der bei gleichgroßer Bakterieneinsaat i. e. bei abgemessenen Bakterienmengen 0·2 ccm konzentrierter wässeriger Methylenblaulösung i. e. 1·2 mg Methylenblau (Grübler) entfärbt wurde. Ein ganz übersichtliches, wenn auch ungenaues Bild von der jeweiligen Reduktionskraft der Suspensionen im Verlauf einiger Tage gab mir die Zahl der nach Reoxydation des Methylenblau durch Schütteln bei Luftzutritt wieder auftretenden Reduktionen.

Ich habe die Reduktionszeiten in den einzelnen Tabellen immer mit angeführt und verzichte deshalb auf eine besondere Zusammenstellung, die die Abhängigkeit derselben von den Zucker- und Bakterienkonzentrationen zeigt. Ich möchte nur in zwei kleinen Zusammenstellungen die Abhängigkeit von der Sterilisation und der Art des Glases, auf deren Einfluß auf das Bakterienleben zuerst Ficker nachdrücklich hingewiesen hat, bei Gegenwart und bei Abwesenheit von N-freiem Kochsalz puriss. Merck zeigen.

Tabelle V.
Einfluß der Sterilisation der Medien auf die Reduktion von Bacterium coli. Die unbeimpften Kontrollen wurden nicht reduziert.

Reduktion in	Sterilisiert $^1/_2$ Stunde bei 120	Nicht sterilisiert
Dextrose-Lösung . . . . 0·2 proz.	nach $^1/_4$ Stunde	nach $^3/_4$ Stunde
„ Kochsalzlösung . . . 0·2 „	„ 1 „	„ $^1/_4$ „
„ Lösung . . . . 1·0 „	„ $^1/_2$ „	„ $^3/_4$ „
„ Kochsalzlösung . . . 1·0 „	„ $^1/_4$ „	„ $^1/_2$ „

Tabelle VI.
Einfluß des Glases auf die Reduktion durch Bacterium coli.
Bei 120 sterilisierte N-freie Dextroselösung mit 4755 Millionen in 1 ccm.

	Jena-Glas		Gewöhnliches Glas	
	Dextrose-lösung	Dextrose-Kochsalzlösung	Dextrose-lösung	Dextrose-Kochsalzlösung
Reduktion nach:	2 Std.	$^1/_2$ Std.	$1^1/_2$ Std.	$^1/_2$ Std.
Reduktion nach 24 Stunden:	—	—	+	—
Keimzahl nach 24 Stunden:	69 Mill.	0	399·8 Mill.	0

[1] In manchen Versuchen kamen auch 1 bis 2 Agarkulturen mehr zur Verwendung; dies ergibt sich aus den angeführten Keimzahlen.



Erwähnen muß ich hier noch, daß in allen sterilisierten Dextrose-Kochsalzlösungen nach anfänglicher Keimvermehrung ein rapides Absterben erfolgte, das auf Säurebildung nicht zurückgeführt werden konnte, da dieselbe zu gering war; sie betrug 0·4 bis 0·6 Prozent n/1. Ich werde darauf weiter unten noch zurückkommen.

Noch eine andere Tatsache ließ sich feststellen, daß nämlich in den sterilen wie den nicht sterilen Dextrose-Kochsalzlösungen nach kürzerer oder längerer Zeit, jedenfalls innerhalb 12 Stunden Häufchenbildung auftrat, und zwar am stärksten in den am schnellsten reduzierenden Suspensionen. Zusatz von Spuren von N in Gestalt von 1 ^{mg} Pepton zu den Suspensionen, die große Mengen Bakterien enthielten, verstärkte diese Häufchenbildung noch. Durch mäßiges Schütteln ließen sich diese Häufchen wieder zum Verschwinden bringen unter gleichmäßiger Trübung der Suspensionsflüssigkeit. Die Keimzahl war unabhängig von dieser Häufchenbildung, denn in den nicht sterilisierten Dextrose-Kochsalzlösungen war das Absterben der Bakterien ein relativ langsames. Als Absterbeerscheinung kann diese Zusammenballung also nicht aufgefaßt werden. In den längere Zeit sterilisierten Dextroselösungen traten diese Häufchen wohl auch angedeutet auf, in den nicht sterilisierten nie.

In den sterilisierten Dextrose-Kochsalzlösungen trat bei sehr großer Bakterieneinsaat nach 24 Stunden ein dicker nicht blau gefärbter Bodensatz auf, und nach dessen Bildung setzte eine geringe Gärung unter Gas- und Milchsäurebildung ein, welch letztere ich bei nur wenig geringerer Azidität in den Dextroselösungen nicht nachweisen konnte. Ich nehme an, daß in dem dicken Bodensatz durch intensive Autolyse den noch lebensfähigen Keimen ein stickstoffhaltiger Nährboden geschaffen wurde, so daß ihnen die Gärung mit Gasbildung ermöglicht wurde.

Betrachten wir nun das Verhalten der Keimzahlen.

Tabelle VII.
Verhalten der Keimzahlen in den verwendeten Medien.
Suspensionen von Bacterium coli in sterilisierten Medien.
1400 Millionen Keime in 1 ^{ccm}. 1·2 ^{mg} Methylenblau. Jena-Glas.

Medien		Reduktion nach	Zahl der Reduktionen	Keimzahl nach ½ Std.	2 Std.	16 Std.
Aqua dest. . .		—	—	421·7	16·91	2·9
Kochsalzlösung	8 proz.	—	—	1404·7	383·4	4·45
Dextroselösung	0·1 „	10 Min.	4	1669·18	1566·3	23·15
„	1·0 „	15 „	4	1346·78	2294·6	46·6
„	5·0 „	15 „	4	2248·14	1102·1	120·9
„	10·0 „	20 „	4	882·76	718·8	13·9



Inwieweit der Zucker hier als Nahrung und inwieweit er als Energiequelle in Betracht kommt, ist schwer zu entscheiden.

Nach Kruse kann man im allgemeinen sagen, „daß reichliche Mengen von Stickstoffverbindungen und gewisse Salze zum Aufbau neuer Substanz unerläßlich sind, während stickstofffreie Kohlenstoffverbindungen vorwiegend und unter Umständen sogar allein imstande sind, den Betrieb aufrecht zu erhalten". Andererseits sagt er: „ob es überhaupt Stoffe gibt, die nur plastischen oder dynamischen Zwecken dienen, ist zweifelhaft".

Mir scheint aus dem Verhalten der Keimzahlen der Schluß zu ziehen erlaubt, daß in den Dextroselösungs-Suspensionen der Zucker hauptsächlich als Energiequelle anzusehen ist. Es wurde den Bakterien in Suspensionen von geeigneter Zuckerkonzentration zwar noch die Energie zur Zellteilung geliefert, aber die daraus resultierenden Individuen waren desto lebensschwächer, so daß sie bald zugrunde gingen, zumal da für sie der Mangel an stickstoffhaltigen Nährstoffen um so verderblicher war. Daher die rapidere Abnahme der Keimzahlen in den Suspensionen, in denen zuerst eine Vermehrung stattgehabt hatte. Die gebildete Säure war nicht so stark, daß sie für die Abtötung der Keime in Betracht gezogen werden könnte. Sie betrug selten mehr wie 0·4 Prozent n/1 NaOH.

Diente der Zucker in den Dextroselösungs-Suspensionen tatsächlich als Energiequelle, und war die Reduktion in ihnen auf Umsetzungen des Zuckers zu beziehen, so mußte der Zucker oxydiert bzw. unter Freiwerden von H_2 gespalten worden, infolgedessen Säuren entstanden sein. Dies war auch tatsächlich der Fall, wie aus den folgenden Tabellen hervorgeht.

Es gehen aus ihnen gleichzeitig die Abhängigkeit der Säurebildung von der Konzentration der Zuckerlösungen und den Bakterienmengen, sowie die Beziehungen zu den Reduktionen hervor.

Die Titrationen wurden mit n/20 NaOH und Phenolphthalein als Indikator in der Kälte ausgeführt (vgl. Tabelle VIII).

Bei einer Konzentration der Dextroselösung von 0·1 Prozent ist also die Säurebildung und Reduktion am stärksten, beide sinken mit der höheren wie mit der niederen Konzentration.

Es muß hier noch bemerkt werden, daß die Suspensionen in unsteriler Dextroselösung niedere Säurewerte und entsprechend geringere Reduktionszahlen aufweisen als die sterilisierten, während umgekehrt die nicht sterilisierten Dextrose-Kochsalzlösungen mehr leisteten als die sterilisierten. Außer von der Konzentration der Zuckerlösung hängt die Intensität der Säurebildung aber auch ab von der Menge der eingesäten Bakterien, und auch hier ist die Stärke der Säurebildung proportional der der Reduktion, wie aus der Tabelle IX hervorgeht.



Tabelle VIII.

Beziehungen zwischen Reduktion und Säurebildung in verschiedenen Zuckerkonzentrationen.

Suspensionen von Bacterium coli in sterilisierten Medien.

2000 Millionen Keime in 1^{ccm}. 1.2^{mg} Methylenblau. Gewöhnliches Glas.

Medien			Reduktion nach	Zahl der Reduktionen	Azidität nach 16 Stunden
Dextroselösung	10	proz.	15 Min.	3	0·225 Proz. n/1 NaOH
„	5	„	10 „	4	0·35 „ „ „
„	1	„	10 „	4	0·4 „ „ „
„	0·1	„	5 „	4	0·4 „ „ „
„	0·01	„	10 „	4	0·25 „ „ „
„	0·001	„	—	—	0·1 „ „ „
Aqua destil.			—	—	0·1 „ „ „
Dextroselösung ohne Coli	0·1	„	—	—	0·1 „ „ „

Tabelle IX.

Beziehungen zwischen Reduktion und Säurebildung bei verschiedenen Bakterienkonzentrationen.

Suspendiert in sterilisierter 1 proz. Dextroselösung; Jena-Glas.

Zahl der Agarkulturen	1	2	3	0
Reduktion nach Minuten	30	20	10	—
Azidität nach 16 Std. in n/1 NaOH .	0·225 Proz.	0·3 Proz.	0·35 Proz.	0·1 Proz.

Hat sich somit einerseits eine zweifellose Abhängigkeit der Reduktionserscheinungen von den Zuckerlösungen, andererseits aber ein Hand in Hand gehen der Reduktionsintensität mit Säurebildung, die nur auf oxydative Zersetzung des Zuckers bezogen werden kann, nachweisen lassen, so ist dadurch mindestens höchstwahrscheinlich gemacht, daß die sichtbar werdende Reduktion des Methylenblau dieser Umwandlung des Traubenzuckers zuzuschreiben ist. Dieser Reduktionsvorgang ist offenbar eine sekundäre Erscheinung des Kraftwechsels des Bacterium coli, und wenden wir uns zu der früher angeführten Tabelle IV zurück, so finden wir hier die ganze Reihe der im Kraftwechsel dieses Bacterium erscheinenden Säuren, in deren Salzen Bacterium coli Reduktion in die Erscheinung treten läßt.

Nach Maassen dient die Reduktion von Nitraten zu Nitriten in der Regel den Bakterien nicht als Mittel zur Deckung des Stickstoffbedarfs, sondern als Energiequelle. Nach seiner Meinung ist die Denitrifikation als eine besondere Art der katalytischen Sauerstoffübertragung zu betrachten, wobei die Reduktion der Nitrate zu Nitriten verbunden ist mit Oxydationen. So erklärt er sich auch die begünstigende Wirkung des

Traubenzuckers auf die Reduktion der Nitrate durch die Oxydation der ersteren. Dieser Vorgang ist in seinem Verlauf sehr verschieden von der Art, wie die Reduktion des Methylenblaus verläuft. Denn während bei der Nitratreduktion den Nitraten selbst eine Rolle zufällt, ist das Methylenblau bei dem Oxydationsvorgang gänzlich unbeteiligt und entbehrlich, es dient eben in diesem Sinne nur als Indikator.

Die Umwandlung des Traubenzuckers ist aber auch in diesem Falle eine fermentative, wofür auch die Spezifität und die Labilität der sie veranlassenden Stoffe sprechen.

Die Labilität der Stoffe, unter deren Einwirkungen Reduktionserscheinungen auftreten, sind aus den bisherigen Arbeiten genügend bekannt. Die Spezifität erweist sich aus folgender Tabelle. Nach den Versuchen mit den Suspensionen von Bacterium coli in Dextroselösungen lag es nahe, das Verhalten anderer Bakterienarten in Medien, die sie in Nährlösungen angreifen oder nicht, und die sie unter Gas- und Säurebildung zersetzen, zu prüfen.

Tabelle X.
Spezifität der Reduktion.

	Sterile Medien	Reduktion
Coli	in Dextrose	+
Pyocyaneus	„ „	+
Typhus	„ „	+ nach 48 Stunden
Coli	in Laktose	+
Typhus	„ „	—
Fluoreszens	in Saccharose	+
Dysenterie	„ „	—
Dysenterie	in Maltose	—
Pseudodysenterie	„ „	+ nach 2 Stunden
Dysenterie	in Mannit	—
Pseudodysenterie	„ „	+ nach 48 Stunden
Dysenterie	in Glyzerin	—
Coli	„ „	+ nach 2 Stunden

Es ergibt sich aus dieser Tabelle auch die geringere Angreifbarkeit der Alkohole verglichen mit der des Zuckers. Es könnte deshalb das Verhalten namentlich der überhaupt weniger widerstandsfähigen Dysenterie- und Pseudodysenteriestämme in den höheren Alkoholen, Glyzerin und Mannit wohl mit durch den höheren osmotischen Druck der letzteren bedingt sein.

Es ergibt sich nun die Frage: ist das hier die Reduktion bewirkende Ferment identisch mit den Gärungsfermenten? Dafür spricht die Identität der Stoffe, gegen die seine Spezifität gerichtet ist, dagegen die Verschiedenheit der resultierenden Produkte (Fehlen der Gasbildung). Diese



Verschiedenheit kann nur begründet sein in der verschiedenen Qualität der Fermente. Man könnte vielleicht sagen, daß die Verschiedenheit des Milieus diesen Unterschied bedingt, daß die gleichen Fermente in dem verschiedenen Milieu eben verschiedene Reaktion katalysierten, indes spielt hier das Milieu sicherlich eine indirekte Rolle, indem nur von den Bakterien resorbierbare stickstoffhaltige Nährstoffe die Gärung ermöglichen.

Die Identität der Stoffe, gegen die ihre Spezifität gerichtet ist, spricht dafür, daß mindestens Beziehungen bestehen müssen zwischen den hier wirksamen Fermenten und den Gärungsfermenten. Ob erstere die mangelhaft ausgebildeten letzteren selbst oder gut ausgebildete Teile derselben sind und als solche die Vorbereitung der gärfähigen Stoffe für die eigentlich vergärenden Fermente bewerkstelligen, ob sie also gewissermaßen als die Ambozeptoren der letzteren zu betrachten sind, während die wirksame Gruppe nicht leistungsfähig ist, diese Frage ist natürlich nach den verschiedensten Richtungen hypothetisch auszudehnen. Sind doch gerade die einleitenden Vorgänge bei den Gärungen noch in tiefes Dunkel gehüllt.

Ich möchte annehmen, daß sie als Teile spezifischer Fermente zwar ebenfalls spezifisch, aber in ähnlicher Weise wirken, wie die metallischen Katalysatoren, daß sie katalytisch wirken auf die leicht oxydabelen organischen Substanzen, wobei Wasserstoff an das Methylenblau angelagert werden muß.

Betrachten wir die Reduktionen mittels organischer Substanzen etwas näher und vergleichen wir sie mit den oben angeführten Stoffen.

Alkohol tritt als reduzierende Substanz auf z. B. als Natriumalkoholat, und zwar nicht etwa durch Wirkung des Natriums, sondern dadurch, daß Natriumalkoholat sich zu Aldehyd und Säure oxydiert, während andere Substanzen reduziert bzw. hydriert werden. Aber auch als solche wirken Alkohole reduzierend, sei es in der Hitze oder unter Druck oder aber unter der Einwirkung von Katalysatoren, und zwar ebenfalls unter Oxydation, z. B. des Glyzerins zu Glyzerose, des Mannit zu Mannose.

Von den Aldehyden sind als reduzierende Substanzen namentlich bekannt Formaldehyd und Traubenzucker. Sie selbst werden dabei zu Säuren oxydiert.

Als typisches Reduktionsmittel ist von organischen Säuren Ameisensäure und ihre Salze zu nennen. Von den Aminen gelangt Anilin zu praktischer Verwendung. — Üben nun meist die organischen Substanzen wegen ihres Gehaltes an Kohlenstoff schon eine reduzierende Wirkung aus, so kommt im höchsten Maße diese Wirkung eiweißhaltigen Substanzen zu und zwar in aufsteigendem Maße von den Polypeptiden bis zu den tierischen Säften und Geweben. In der bakteriologischen Technik kommen denn auch viele dieser Stoffe eben ihrer reduzierenden Eigenschaften wegen

als Nährbodenzusätze zur Verwendung. So sind ameisensaures Natrium und Traubenzucker trefflich geeignet, die reduzierende Kraft gewöhnlicher Bouillon und des Peptonwassers beträchtlich zu steigern bzw. sie ihnen zu verleihen, wie bereits früher ausgeführt wurde.

So sind Organstückchen bezw. deren Extrakte schon seit langem von vielen Bakteriologen ihrer reduzierenden Eigenschaften wegen für Anaerobenzüchtung verwendet worden.

Was nun die Wirkungsweise der ersteren angeht, so muß man annehmen, daß in der Bouillon bzw. Peptonwasser Katalysatoren vorhanden sind, die das ameisensaure Natrium bzw. den Traubenzucker oder Fleischzucker oxydativ beeinflussen und zwar in einer Weise, daß Wasserstoff dabei verfügbar wird, event. unter Einbeziehung von Wasser in die Reaktion.

Pfuhl konnte die Reduktionskraft steriler gewöhnlicher Bouillon steigern durch Zusatz von Katalysatoren, wie Platinschwamm oder Hepin. Ob diese Katalysatoren auf den in der gewöhnlichen Bouillon vorhandenen Fleischzucker oder die Bouillon an sich einwirken, wäre in einfacher Weise festzustellen.

Ob nicht viele der von Wrzosek und Hata und anderen verwendeten organischen und anorganischen Substanzen mehr katalysatorisch beeinflussend als beeinflußt indirekt reduzierend wirken, bliebe ebenfalls zu untersuchen. So sagt Lafar über die katalysatorische Wirkung des Eisens, das Hata unter anderen Substanzen als Reduktionsmittel der Bouillon zusetzte: „Es ist wohl kaum zweifelhaft, daß die beiden Metalle (Eisen und Mangan) durch ihre wechselnde Wertigkeit, durch ihre Fähigkeit leicht aus einer Oxydationsstufe in eine andere überzugehen, die Übertragung des Sauerstoffs auszuführen imstande sind.“ Woher hierbei der Sauerstoff genommen wird, ist noch nicht erklärt, ebensowenig die Herkunft des auch bei diesem Vorgang verwendbar werdenden Wasserstoffs. Es wäre immerhin denkbar, daß auch hier der Sauerstoff des Wassers durch die in der Bouillon enthaltenen Katalysatoren auf dem Umweg über das Eisen leichter auf den Zucker übertragen würde.

Große Unklarheit herrscht auch noch über die Art des Zustandekommens der Reduktionswirkung der tierischen Säfte und Gewebe. Die Wirksamkeit eines direkt reduzierenden Enzyms, einer Reduktase, wird jedenfalls in jüngerer Zeit von den bedeutendsten Autoren auf diesem Gebiet bestritten.

Smidt schreibt die reduzierende Wirkung frischer, bakterienfreier Milch gegenüber dem im Schardingerschen Reagens enthaltenen Methylenblau einem Ferment zu, das Formaldehyd katalysatorisch beeinflußt, so daß dieses sich zu Ameisensäure oxydiert, während gleichzeitig Methylenblau reduziert wird.



In gleicher Weise oxydiert sich unter dem Einfluß dieses Fermentes Acetaldehyd zu Essigsäure unter Reduktion des Methylenblau. Smidt bezeichnet dieses Ferment als Aldehydkatalase.

Das gleiche Ferment bezeichnet Seligmann, der es übrigens für bakteriellen Ursprungs hält, als indirekte Reduktase.

Unter Berücksichtigung gradueller Unterschiede sowie unter Berücksichtigung der Art der Stoffe, in denen die Fermentwirkung vor sich geht, glaube ich dieser Schardingerschen Reaktion an die Seite stellen zu dürfen die von Jaquet entdeckte und später von Salkowski, Abelous und Biarnès und am eingehendsten von Martin Jakoby behandelte Oxydation des Salizylaldehyd durch Organwirkung, die des Methylalkohols und des Formaldehyds durch Organbrei nach Pohl, sowie die von Lépine und Spitzer studierte Glykolyse durch Organbrei. Wenn diese glykolytischen Fermente empfindlicher sind gegen Erhitzen, so schließt das ja eine gleichartige Wirkungsweise nicht aus.

Als sekundäre Erscheinungen eben solcher oxydativer Vorgänge kann man ebenso wie die Reduktion des Methylenblau in Schardingers Reagens durch Milch die Reduktion des Methylenblau durch tierische Säfte und Gewebe betrachten. Auch hier bietet die verschiedene Resistenz keinen Grund, der gegen die gleiche Art der Wirkungsweise spräche.

So glaubt auch Heffter, der die Wirksamkeit eines reduzierenden Ferments in den Geweben bestreitet, annehmen zu dürfen, daß es sich bei der Reduktionswirkung der Gewebe um nicht hitzebeständige, leicht oxydabele Kolloide handelt, die vielleicht den Aldehyden angehören, zumal da gerade Blausäure eine die Reduktion hemmende Wirkung ausübt, die auf die bekannte Veränderung der Aldehyde durch Blausäure bezogen werden kann und nicht der Eigenschaft der Blausäure als Fermentgift zugeschrieben werden muß.

Es würde also nach meiner Anschauung der Zusatz von Salizylaldehyd zu Organbrei einfach eine Vermehrung der normalerweise vorhandenen leicht oxydabelen Aldehyde oder anderen Stoffen bedeuten.

Die gleiche Art der Stoffe, die der Oxydation anheimfallen, zusammen mit der Hydrierung des Methylenblau bei Gegenwart der gleichen Substanzen spricht dafür, daß es sich hier um gleichartige Prozesse handelt. Auf die Möglichkeit der Identität der reduzierenden und oxydierenden Fermente, die nur unter verschiedenen Bedingungen verschieden wirken, weist schon Höber hin. Jakoby nimmt an, daß dieselben Katalysatoren je nach Art und Zusammensetzung der Stoffe, in denen sie wirken, verschiedene Reaktionen katalysieren können.

Maassen kommt auf Grund theoretischer Betrachtungen zu der Ansicht, daß zwischen den reduzierenden und oxydierenden Fermenten ge-

wisse Beziehungen obwalten. Die weiter oben ausgesprochene Annahme von Teilfermenten würde auch die noch bestehenden Schwierigkeiten einer einheitlichen Auffassung der genannten Reduktionsvorgänge, soweit sie andere Fermentwirkungen begleiten, beseitigen können.

In gleicher Weise möchte ich mir das Zustandekommen der Reduktionserscheinungen in den Bakteriensuspensionen in Dextroselösungen vorstellen. Ganz besonders sei noch hingewiesen auf die Analogie zwischen der Reduktion des Methylenblau unter Oxydation des Formaldehyds durch Fermente der Milch und der gleichen Reaktion durch Suspensionen von Bacterium coli im Schardingerschen Reagens ohne sonstige Zusätze.

Der Aldehydkatalase Smidts würden also von den Bakterien gelieferte Katalysatoren entsprechen, die ihre Spezifität dem Umstande verdanken, daß sie, wie oben angegeben, als Teile spezifischer Fermente in Kraft treten.

Wir haben bisher nur die einfachsten Stoffe behandelt, die im Leben der Bakterien eine Rolle spielen. Betrachten wir nun aber die höher zusammengesetzten Nährstoffe, so finden wir im Laufe der Zersetzung dieser Substanzen zahlreiche Prozesse, die die Hydrierung des Methylenblau erklären können.

Die Zersetzung der Eiweißstoffe geschieht durch hydrolytische Spaltung bis zu den Aminosäuren, deren Zerlegung sich den Spaltungsgärungen der Kohlehydrate, Fettsäuren usw. an die Seite stellen läßt und wie diese zur Lieferung von Betriebskraft dient. Neben diesen Spaltungen laufen Oxydationen und sekundäre Reduktionen her. Woher der Sauerstoff zu diesen Oxydationen stammt, ist noch ungewiß. Nach Kruse wird er möglicherweise aus dem Wasser übertragen. Die Kohlehydrate dienen dem Kraftwechsel durch Spaltungsgärungen. Die meisten dieser Gärungen sind gemischte, und bei der einen oder anderen tritt H_2 in mehr oder weniger großer Menge auf.

Bei allen dem Abbau angehörigen Umwandlungen der Nährstoffe der Bakterien spielen jedenfalls Oxydationen und Spaltungen unter Freiwerden von H_2 die Hauptrolle, während Reduktionsprozesse hauptsächlich als sekundäre Erscheinungen in Betracht kommen. Es kommt also bei diesen dem Energiewechsel angehörigen abbauenden Prozessen zweifellos naszierendem Wasserstoff sowie Schwefelwasserstoff ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Reduktion des Methylenblau zu.

Eine neue Frage ist die, spielen sich diese Reduktionsvorgänge innerhalb oder außerhalb der Zellen ab. Die meisten diesbezüglichen Literaturangaben habe ich bereits weiter oben erwähnt. Nach Cahen, Spina, Smith, Klett, Scheuerlen, Beyerinck, Cathcart und Hahn sowie Maassen ist die Reduktionswirkung der Bakterien an ihr Protoplasma



nach Rozsahegyi, Baginsky, Fr. Müller, Wolff, Carapelle und Wichern an ihre Stoffwechselprodukte geknüpft. Daß das Bakterienprotoplasma reduzierende Eigenschaften besitzt, scheint nach den Versuchen mit seleniger und telluriger Säure, sowie nach den Versuchen Cathcarts und Hahns, sowie Maassens mit Acetonextrakten erwiesen. Dafür spricht auch die von Cathcart und Hahn festgestellte Tatsache, daß 2 Stunden lang mit 50prozentigem Rohrzucker digerierte Colibazillen in 10prozentiger Rohrzuckerbouillon bedeutend stärker reduzierend wirkten wie nicht digerierte, ein Umstand, den Cathcart und Hahn auf eine Lösung des Zellprotoplasmas, eine Extraktion der Bakterienleiber zurückführen. Auf den gleichen Umstand möchte ich die noch nach 3 bis 4 Tagen in reinen 10prozentigen Dextrosesuspensionen unter Klärung der Suspensionsflüssigkeit auftretende Reduktion bei erloschenem Bakterienleben zurückführen. Der gleiche Vorgang ist nach mehreren Tagen in Suspensionen von Colibakterien in Aqua destillata zu beobachten. Doch ist die Reduktion von Methylenblau in Suspensionen höchstwahrscheinlich eine andere Art, soweit sie nur in solchen Suspensionen auftritt, die für die Bakterien angreifbare Stoffe enthalten.

Von den Versuchen, die angestellt wurden zum Nachweis, daß Stoffwechselprodukte der Bakterien die Reduktion bewirkten, möchte ich nur die von Wichern als beweisend ansehen.

Die Entfärbung des mit Methylenblau gefärbten Agars auch in bakterienfreien Teilen, ist nicht beweisend für diffundierende reduzierende Substanzen, denn auch das Methylenblau diffundiert ständig zwischen bewachsenen und nicht bewachsenen Kulturteilen. Auch die Versuche Carapelles mit Zelluloidinröhrchen sind nicht beweisend, da eine Reduktion des sie umgebenden Methylenblauagars nach 2 bis 3 Tagen wohl durch den Agar selbst bedingt sein konnte, und Kontrollen nicht erwähnt sind.

Edwin Broun Fred benutzte Kollodiumsäckchen, die er mit Methylenblaulösung füllte und in stark reduzierende Milchkulturen suspendierte, doch erhielt er keine vollständige Entfärbung. Er schließt daraus, daß die Reduktion intra- und extrazellulär erfolge.

Ich selbst habe ebenfalls mit Kollodiumsäckchen Versuche angestellt. Sie erwiesen sich mir als unbrauchbar, da, wenn Differenzen des osmotischen Druckes zwischen den Flüssigkeiten innerhalb und außerhalb des Säckchens vorhanden waren, ein großer Teil des Farbstoffs durch dessen Wände absorbiert wurde. Die blau gefärbte Flüssigkeit wurde zwar erheblich heller, aber beim Schütteln mit Luft wurde sie nicht wieder dunkler. Dieser Nachteil der Kollodiumsäckchen wurde auch von Abderhalden hervorgehoben.



Ich versuchte es deshalb mit Lackmuslösung, die nur wenig adsorbiert wurde, und hiermit konnte ich keine diffundierenden reduzierenden Stoffe feststellen. Auch Schilfsäckchen, bei denen der Nachteil der Adsorption wegfiel, ließen keine reduzierenden Substanzen diffundieren.

Ich wandte mich daher der Methode von Wichern zu. Da es mir in zahlreichen Versuchen nicht gelang, eine beimpfte Agarschicht so zu überschichten, daß keine Keime auf der Oberfläche wuchsen, traf ich eine andere Versuchsanordnung. Ein weites 30^{cm} langes Glasrohr wurde an einem Ende ausgezogen, am anderen durch einen durchlochten Gummistopfen fest verschlossen, dessen Bohrung mittels eines Glasstopfens ebenfalls geschlossen wurde. Dieses Rohr wurde in aufrechter Stellung von der Öffnung des ausgezogenen Teiles aus bis zur Hälfte mit Agar gefüllt, das obere Ende durch einen Wattestopfen verschlossen, und das so präparierte Rohr sterilisiert. Es wurden dann in den erstarrten Agar Stichkulturen von Coli durch die Bohrung des Gummistopfens angelegt (5 bis 6 Stiche), diese wieder verschlossen und vom oberen Ende aus der Agar steril mit 30^{ccm} Peptonwasser überschichtet. Nach 16 stündigem Aufbewahren bei 37° waren auch hier die Bakterien an der Wand des Rohres entlang in die übergeschichtete Flüssigkeit gelangt. Es handelte sich hierbei nicht etwa um eine Verunreinigung von außen her, denn auch in den nicht überschichteten Rohren waren Kolonien am Rande der Agaroberfläche ringsherum gewachsen.

Ich stellte deshalb die gleichen Versuche mit Staphylokokken an. Hier blieb wenigstens manchmal die überstehende Flüssigkeit steril. Dieselbe wurde dann nach 24 Stunden mit $0 \cdot 6^{mg}$ sterilen Methylenblau versetzt, die überstehende Luft steril durch CO_2 ersetzt, das ausgezogene Ende zugeschmolzen, und das Rohr nach dem Erkalten umgedreht und so im Brutschrank aufbewahrt. Auch dann wurde noch nachträglich in der Mehrzahl der Fälle die Flüssigkeit von oben her infiziert, wie wiederum das Herüberwachsen der Staphylokokken über die Agarfläche vom Rande her zeigte. In den wenigen Fällen, wo keine Infektion des Peptonwassers stattfand, trat auch keine Reduktion des Methylenblau ein.

Mit Filtraten stark reduzierend wirkender Suspensionen in Calcium formiat, gewonnen mittels Filtration durch Berkefeld-Filter erhielt ich ebensowenig Reduktion wie Smith, Carapelle und Edwin Broun Fred, in ihren entsprechenden Versuchen, auch nicht wenn ich zu den Filtraten kleine Mengen Calcium formiat neu hinzufügte.

Trotz aller dieser Mißerfolge bin ich doch der Ansicht, daß die Reduktion des Methylenblau, soweit sie durch die Medien beeinflußt wird, außerhalb der Zellen stattfindet und zwar aus folgenden Gründen.



Tritt die Reduktion des Methylenblau innerhalb der Zellen auf, so muß das gesamte Methylenblau durch die Bakterienleiber hindurchgehen; dann müßten aber in Kochsalzlösung, in der keine Reduktion erfolgt, die Bakterien leicht blaue Farbe annehmen; dies ist aber nicht der Fall, denn der Bodensatz in Zentrifugaten von Kochsalzsuspensionen ist ebenso weiß wie der aus stark reduzierenden Suspensionen. Wollte man einwenden, daß eben nur so geringe Mengen Methylenblau sich jeweils in den Bakterien aufhalten, daß sie nicht sichtbar werden, dann müßte die gesamte Flüssigkeitsmenge durch die Leiber ungezählte Male hindurch gehen. Wollte man annehmen, daß die Bakterien in Lösungen, in denen sie Reduktion veranlassen, eben mehr Methylenblau aufnehmen, dann müßten die Zellleiber jeweils auch mehr, wenn auch reduziertes Methylenblau enthalten, und die obenstehende Flüssigkeit in den zentrifugierten reduzierenden Suspensionen müßte heller sein wie die in den nicht reduzierenden; die Farbe ist aber in beiden die gleiche.

Ein weiterer Grund für die Annahme, daß die Reduktion außerhalb der Zellen auftritt, ist folgender. Bei der spontanen Bildung von blau gefärbtem Bodensatz, wie er nach einigen Tagen aufzutreten pflegt, zeigt sich ein Hellerwerden der blauen Farbe der überstehenden Flüssigkeit. Dies beruht auf der starken Absorption des Methylenblau durch die abgestorbenen Zellen. In den Suspensionen mit lebenden, reduzierend wirkenden Bakterien fällt nun bei Reoxydation durch Schütteln an der Luft folgendes auf. In stark reduzierenden Suspensionen tritt bei der Reoxydation die ursprüngliche blaue Farbe nur schwer und bei längerem ständigen Schütteln wieder auf, während bei ruhigem Stehenlassen der Flüssigkeit im offenen Schenkel die hellblaue Farbe noch heller wird, an ihrer Oberfläche aber sich eine schmale tiefblaue Schicht bildet.

Diese Art der verzögerten Reoxydation, wie sie bedingt ist durch die Intensität der Reduktion, ist wohl zu unterscheiden von der, wie sie in älteren Suspensionen einige Zeit vor dem Absterben der Bakterien in die Erscheinung tritt. Hier bleibt auch starkes Schütteln an der Luft ohne Einfluß. Die tiefblaue Schicht an der mit dem Luftsauerstoff in unmittelbarer Berührung stehenden Oberfläche der Flüssigkeit im offenen Schenkel fehlt. In diesen Suspensionen sind nach einigen Stunden die Bakterien abgestorben. Diesen Fall der schwereren Reoxydation erkläre ich mir so, daß die dem Absterben nahen Bakterien jetzt den Farbstoff aufnehmen, aber in ihrem noch lebenden Protoplasma ihn reduzieren, und hier kann der Sauerstoff der Luft nicht ohne weiteres seinen Einfluß geltend machen und reoxydierend wirken. Zerstört ist hier der Farbstoff nicht, wie man wegen der mangelhaften Reoxydation denken könnte, denn nach und nach tritt die Blaufärbung wieder auf, aber dann finden wir die Bakterien blau



gefärbt. Findet somit nach den bisherigen Ausführungen die Reduktion des Methylenblaus in Bakteriensuspensionen mit Wahrscheinlichkeit außerhalb der Zellen statt, so muß andererseits doch offenbar ein enger Zusammenhang zwischen den lebenden Zellen und den die Reduktionserscheinungen auslösenden Substanzen anerkannt werden. Dafür spricht einmal der Umstand, daß es trotz zahlreicher Versuche bisher nur einem Autor (Wichern) gelungen ist, schwach reduzierende Substanzen von den lebenden Zellen zu trennen, welche Versuche ich nicht bestätigen konnte, andererseits die quantitative Abhängigkeit der Reduktionsvorgänge von der Bakterienmenge.

Es scheint demnach die alte Anschauung Th. Smiths richtig zu sein, daß die Reduktionsvorgänge eng an die lebende Zelle geknüpft sind, vielleicht, wie Ehrlich schon vor vielen Jahren annahm, sich in dem Paraplasma der Bakterien abspielen.

Zusammenfassung.

1. Die in den gebräuchlichen Nährböden auftretenden Reduktionserscheinungen stehen hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich mit oxydativen Veränderungen von Zucker in direktem Zusammenhang.

2. Die in Bakterienkulturen auftretenden Reduktionserscheinungen sind als sekundäre Erscheinung der im Kraftwechsel der Bakterien auftretenden Prozesse aufzufassen; sie ergeben sich auch in stickstoffreien Bakteriensuspensionen, vorausgesetzt, daß die Medien den spezifischen Fermenten der betreffenden Bakterienart zugänglich sind.

3. Die Fermente, welche die betreffenden stickstoffreien Medien unter gleichzeitiger Reduktion des Methylenblau angreifen, sind als Teile oder Vorstufen der eigentlichen, diese Stoffe vergärenden Fermente aufzufassen; sie wirken wie Oxydationsfermente.

4. Die Reduktionsvorgänge spielen sich wahrscheinlich außerhalb der Zellen, aber in unmittelbarem Zusammenhang mit ihnen ab.

Hrn. Professor Th. Smith von der Harvard-Universität Boston, welcher als Austauschprofessor am hiesigen Hygienischen Institut mir die Anregung zu der vorstehenden Arbeit gab und mich in die einschlägige Methodik einführte, möchte ich auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank aussprechen.



Literatur-Verzeichnis.

Abderhalden, *Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden.*
Abelous et Alois, *Compt. rend. d. l. soc. d. biol.* 1903. T. XLVIII.
Abelous u. Biarnès, *Arch. d. physiol.* 1898.
Baginski, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1888.
Beyerinck, Kochs *Jahresbericht.* 1904.
Cahen, *Diese Zeitschrift.* Bd. II.
Carapelle, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLVII.
Cathcart u. Hahn, *Diese Zeitschrift.* Bd. XLIV.
Ehrlich, *Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus.* Berlin 1885.
Ficker, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIX.
Fred, Edw. Br., *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXV. Abt. 2.
Gloger, *Ebenda.* Bd. XL. Abt. 1.
Gosio, *Diese Zeitschrift.* 1905.
Hata, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLVI.
Heffter, *Archiv für experimentelle Pathologie.* 1908.
Höber, *Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe.* 1902.
Jakoby, Martin, Virchows *Archiv.* Bd. CLVII.
Derselbe, *Zeitschrift f. physik. Chemie.* Bd. XXX.
Jaquet, *Archiv für experimentelle Pathologie.* Bd. XXIX.
Klett, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIII.
Kramer, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LXII.
Kruse, *Allgemeine Mikrobiologie.*
Kuhtz, *Archiv f. Hygiene.* Bd. LVIII.
Lafar, *Handbuch d. techn. Mykologie.*
Lépine, *Lyon médical.* 1897.
Maassen, *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. VIII., XVIII. u. XXI.
Müller, Fr., *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI.
Oppenheimer, *Fermente.* 1912.
Pfuhl, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XLIV.
Pohl, *Archiv für experimentelle Pathologie.* Bd. XXXVIII.
Rozsahegyi, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. II.
Salkowski, Virchows *Archiv.* Bd. CXLVII.
Scheuerlen, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVII.
Schultze, *Ebenda.* Bd. LXI.
Seligmann, *Diese Zeitschrift.* Bd. LII.
Smidt, *Hygien. Rundschau.* Bd. XIV.
Derselbe, *Archiv f. Hygiene.* Bd. LVIII.
Smith, Th., *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. VII., XIII., XIV. u. XIX.
Spina, *Ebenda.* Bd. II.
Spitzer, Pflügers *Archiv.* Bd. LXVII. u. XCI.
Timpe, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIV.
Wichern, *Archiv f. Hygiene.* Bd. LXXII.
Wolff, Alf., *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVII.
Wrzosek, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1905.



[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg.]
(Direktor: Prof. Dr. Uhlenhuth.)

Beiträge zur Anaphylaxie.

Von

Priv.-Doz. Dr. H. **Dold** und Dr. K. **Aoki**.

I. Die Wirkung des Alkohols auf die anaphylaktogenen Eigenschaften des Eiweißes.[1]

In einer kürzlich erschienenen Arbeit hat Kodama[2] über den Einfluß des Alkohols auf die antigenen und speziell auf die anaphylaktogenen Eigenschaften von Pferdefleischeiweiß berichtet.

Er brachte gleich große Fleischstücke in Alkohol, entnahm nach verschiedenen Zeitintervallen die Stücke und stellte sich nach Entfernung des Alkohols wässerige Extrakte her, indem er die Stücke zerkleinerte und 24 Stunden lang im Eisschranke mit physiologischer Kochsalzlösung extrahierte.

Er behandelte dann die Meerschweinchen mit den Extrakten in der üblichen Weise vor und fand, daß die Extrakte schon nach kurzer Zeit (nach 1 bis 10tägigem Verweilen der Fleischstücke in Alkohol) nicht mehr imstande waren, Anaphylaxie zu erzeugen.

Ausgehend von der Annahme, daß dieses frühzeitige negative Ergebnis darauf beruht, daß das durch den Alkohol gefällte Eiweiß sehr bald nicht mehr in Lösung geht, setzten wir die Versuche in der Weise fort, daß wir an Stelle der Extrakte nach Entfernung des Alkohols das Eiweiß selbst, aufgeschwemmt, den Tieren zur Vorbehandlung einspritzten.

[1] Die diesbezüglichen Ergebnisse wurden bereits auf der *Mikrobiologenversammlung in Berlin am 2. IV. 1913* von Dold (Diskussionsbemerkung) mitgeteilt.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1913. Bd. LXXIV. S. 30.



Zunächst verwendeten wir mit Alkohol ausgefälltes Pferdeserumeiweiß.

Zu 10 ccm Pferdeserum wurden 20 ccm 96prozentiger Alkohol zugesetzt. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert und dann nach Entfernung des überstehenden Alkohols nochmals mit 20 ccm 96prozentigem Alkohol versetzt. Das Ganze wurde unter luftdichtem Verschluß 15 Tage lang im Eisschrank gehalten. Hierauf wurde abzentrifugiert, der Alkohol verdampft, und der Niederschlag in 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung fein zerrieben und aufgeschwemmt.

Mit dieser Aufschwemmung wurden

1. Tiere vorbehandelt, und
2. Tiere, die schon früher mit Pferdeserum vorbehandelt waren, reinjiziert.

Tabelle I.

Nummer	Vorbehandelt mit „alkoholisiertem“ Pferdeserumniederschlag			Reinjiziert	Wirkung
	25. II.	26. II.	27. II.	22. III.	
1	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm inaktiv. Pferdeserum	starke Krämpfe, † 3′
2	0·5 „	0·5 „	0·5 „	desgl.	typ. Krämpfe, † 2′
3	0·5 „	0·5 „	0·5 „	„	desgl.
4	0·5 „	0·5 „	0·5 „	„	„
5	—	—	—	„	0
6	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm inaktiv. Menschenserum	0
7	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 ccm inaktiv. Rinderserum	0

Tabelle II.

Nr.	Vorbehandelt mit inaktivem Pferdeserum (1 : 100)			Reinjiziert mit „alkoholisiertem“ Pferdeserumniederschlag	Wirkung
	3. I.	5. I.	7. I.	25. II.	
1	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	Krämpfe, † 3′
2	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	desgl.
3	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	Krämpfe, † 2′
4	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	desgl.
5	—	—	—	0·5 „	0
6	0·5 ccm inakt. Rinderserum	0·5 ccm inakt. Rinderserum	0·5 ccm inakt. Rinderserum	0·5 „	0

Wir haben dann weiterhin untersucht, ob man durch Vorbehandlung mit Aufschwemmungen der Organe selbst (anstatt durch Vorbehand-



lung mit wässerigen Extrakten) noch die Herkunft von Organen, die jahrelang im Alkohol gelegen hatten, erkennen kann. Es standen uns für diese Versuche zur Verfügung:

1. Organe (Leber, Milz) einer an Milzbrand eingegangenen Maus, die 2 Jahre lang in Alkohol gelegen hatten.

2. Organe (Gehirn) eines vor 11 Jahren an Lepra gestorbenen Menschen; das Gehirn hatte 11 Jahre in Alkohol gelegen.

Die Vorbehandlung der Meerschweinchen geschah in der Weise, daß die Organe nach Verdampfung des Alkohols fein zerrieben und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden, worauf die Aufschwemmungen den Tieren subkutan eingespritzt wurden.

Tabelle III.

Mäuseorgane (Leber, Milz). (2 Jahre in Alkohol.)

Nr.	Vorbehandelt am				Reinjektion mit Mäuseblut (in 0·85 prozent. NaCl-Lösung)	Wirkung
	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.	24. III.	
1	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	Jucken, Kratzen, typische Krämpfe, † 3′
2	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	desgl.
3	—	—	—	—	0·5 „	0

Tabelle IV.

Menschenorgan (Gehirn). (11 Jahre in Alkohol.)

Nr.	Vorbehandelt am				Reinjiziert mit inakt. Menschenserum	Wirkung
	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.	24. III.	
1	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	0·5 ccm	leichte Erscheinungen
2	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	Jucken, Kratzen, Brechreiz
3	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	0·5 „	desgl.
4	—	—	—	—	0·5 „	0

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß die Verhältnisse ganz anders liegen, wenn man statt mit Extrakten aus den Organen mit den Organen selbst vorbehandelt. Man kann so bei Organen, die jahrelang in Alkohol lagen, durch den anaphylaktischen Versuch noch deutlich ihre Herkunft nachweisen. Bei den 2 Jahre alten Mäuseorganen war die Reaktion noch stark positiv, während sie bei den 11 Jahre alten Menschenorganen nur noch angedeutet war. Es tritt also anscheinend doch mit



der Zeit eine so weitgehende Denaturierung ein, daß auch bei Vorbehandlung mit den Organaufschwemmungen die Reaktion schwächer wird und schließlich wohl auch ganz aufhört.

Durch weitere Untersuchungen soll festgestellt werden, wie lange in Alkohol aufbewahrte Organe ihre Herkunft noch durch die anaphylaktische Reaktion erkennen lassen.

Die Erklärung für den Unterschied in den Ergebnissen der mit Organextrakten und mit Organaufschwemmung angestellten Versuchen liegt wohl darin, daß der lebende Organismus in seinen alkalischen Körpersäften über andere und stärkere Lösungsmittel verfügt, als wir in der physiologischen Kochsalzlösung haben.

Für die Praxis ergibt sich aus diesen Versuchen, daß, wenn es sich um die Feststellung der Herkunft von in Alkohol aufbewahrten Organen handelt, die Vorbehandlung mit **Aufschwemmungen der Organe** geschehen soll, da bei Verwendung von Extrakten die Reaktion schon sehr früh versagt.

Ähnlich werden die Verhältnisse bei gekochtem Eiweiß liegen; auch hier wird je nach der Dauer der Hitzeeinwirkung wenig oder gar kein Eiweiß mehr in die Kochsalzextrakte in Lösung gehen, so daß die mit solchen Extrakten angestellten Anaphylaxieversuche zu keinem positiven Ergebnis mehr führen, während man mit dem gekochten Eiweiß selbst, wie wir aus Versuchen von Dörr und Russ, Uhlenhuth und Händel wissen, noch Anaphylaxie erzeugen kann.

II. Beiträge zur Bakterienanaphylaxie.

1. Aktive Anaphylaxie mit Hühnerspirochäten.

Wir haben früher[1] über die Bildung von Anaphylatoxin im Reagensglas aus Hühnerspirochäten berichtet.

In folgenden seien aktive Anaphylaxieversuche mit frischen und gekochten Hühnerspirochäten wiedergegeben.

Das Material wurde durch Auszentrifugieren von Hühnerblut gewonnen, das, in einem bestimmten Stadium der Infektion entnommen, von Spirochäten wimmelt. Es bildet sich beim Zentrifugieren oberhalb der am Boden liegenden Blutkörperchen eine weiße Schicht, die nur aus Spirochäten besteht und mit Hilfe einer Kapillarpipette mit Gummiballon leicht abgenommen werden kann. Durch häufig wiederholtes Waschen und Auszentrifugieren der Spirochäten erzielt man schließlich ein Material, welches

[1] *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* 1912. Bd. XIII. Hft. 2.

ganz frei von Hühnerblutkörperchen ist und nur noch minimale Spuren von Hühnerserum adsorbiert enthält. Die Spirochäten wurden in unseren Versuchen vor ihrer Verwendung 15 mal mit 30^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung gewaschen.

Zur Vorbehandlung wurden Meerschweinchen Aufschwemmungen der Spirochäten subkutan zwei- bzw. dreimal injiziert; die Tiere wurden nach 3 bzw. 7 Wochen mit Aufschwemmungen von Spirochäten, die zehnmal dünner als die zur Vorbehandlung benutzten waren, reinjiziert.

Außerdem wurden zur Kontrolle die mit Hühnerspirochäten vorbehandelten Meerschweinchen mit Hühnerserum nachgespritzt.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in den folgenden zwei Tabellen zusammengestellt, von denen die erstere die Versuche mit frischen, die letztere die mit gekochten, d. h. 10 Minuten lang auf 96 bis 98° C erhitzten Spirochäten betrifft.

Tabelle V.
Hühnerspirochäten (frisch).

Nr.	Vorbehandlung am		Reinjektion am	Wirkung
	4. I.	6. I.	24. I.	
1	2^{ccm} Spirochätenaufschwemmung[1] s. c.	2^{ccm} Spirochätenaufschwemmung s. c.	4^{ccm} Spirochätenaufschwemmung[2] i. v.	sofort starke typische Krämpfe, erholt sich wieder
2	desgl.	desgl.	desgl.	leichte Krämpfe, Atemnot, Urin-, Kotabgang
3	„	„	„	sofort starke Krämpfe, erholt sich
4	„	„	„	sofort starke Krämpfe. † 3′
5	„	„	4^{ccm} 1:100 verdünntes Hühnerserum	sofort starke Krämpfe, † 1′
6	„	„	4^{ccm} 1:100 verdünntes Hühnerserum	desgl.
7	„	„	4^{ccm} 1:10000 verdünntes Hühnerserum	0
8	—	—	4^{ccm} Spirochätenaufschwemmung	0

[1] Eine Aufschwemmung von 15 mal mit 0·85 prozent. NaCl-Lösung gewaschenen auszentrifugierten Spirochäten, deren Dichtigkeit dem Aussehen nach etwa der Dichtigkeit einer Aufschwemmung von 5 Ösen Coli in 1^{ccm} NaCl-Lösung entspricht.

[2] Diese Aufschwemmung war 10 mal dünner wie die obige.



Tabelle VI.
Hühnerspirochäten (gekocht).

Nr.	Vorbehandelt am			Reinjektion am	Wirkung
	30. I.	4. II.	7. II.	17. III.	
1	2 ccm Spir.-Aufschwemmung[1] (gekocht) s. c.	2 ccm Spir.-Aufschwemmung (gekocht) s. c.	2 ccm Spir.-Aufschwemmung (gekocht) s. c.	4 ccm Spirochäten-Aufschwemmung[2] i. v.	sofort starke Krämpfe, † 3'
2	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
3	"	"	"	"	leichte Erscheinungen, Atemnot, Urin-, Kotabgang, erholt sich
4	"	"	"	"	sofort starke Krämpfe, † 2'
5	—	—		"	0
6	2 ccm Spir.-Aufschwemmung (gekocht) s. c.	2 ccm Spir.-Aufschwemmung (gekocht) s. c.	2 ccm Spir.-Aufschwemmung (gekocht) s. c.	4 ccm 1 : 100 verd. Hühnerserum	sofort starke Krämpfe, † 2'
7	desgl.	desgl.	desgl.	4 ccm 1 : 10000 verd. Hühnerserum	0

Die Versuche zeigen, daß man nach Vorbehandlung von Meerschweinchen mit 15 mal gewaschenen Hühnerspirochäten sowohl durch Reinjektion von Hühnerspirochäten (Versuch 1, 2, 3, 4 in Tab. V und Versuch 1, 2, 3, 4 in Tab. VI), als auch durch Reinjektion von Hühnerserum allein (Versuch 5 und 6 in Tab. V und Versuch 6 in Tab. VI) den anaphylaktischen Shock auslösen kann. Die Injektion der Spirochätenaufschwemmung ruft an sich beim unvorbehandelten Tier keine Erscheinungen hervor (Versuch 8 in Tab. V und Versuch 5 in Tab. VI). Es wird also durch die Vorbehandlung mit den Hühnerspirochäten sicher gleichzeitig eine Überempfindlichkeit gegen Hühnereiweiß geschaffen, und es war die Frage, ob es sich bei den nach der Reinjektion mit Hühnerspirochäten auftretenden Reaktionen nur um eine Hühnerserumüberempfindlicheit oder um eine echte Spirochätenanaphylaxie handelte. Da die bei der Reinjektion der 15 mal gewaschenen Hühnerspirochäten mit eingespritzte Serummenge sicher noch viel geringer ist als diejenige Serummenge, durch deren Injektion wir keine anaphylaktischen Erscheinungen mehr auslösen konnten (4 ccm 1 : 10000 verdünntes Hühnerserum), so halten wir

[1] Eine Aufschwemmung von 15 mal mit 0·85 prozent. NaCl-Lösung gewaschenen auszentrifugierten und gekochten Spirochäten, deren Dichtigkeit dem Aussehen nach etwa einer Aufschwemmung von 5 Ösen Coli in 1 ccm NaCl-Lösung entspricht.

[2] Diese Aufschwemmung war eine 10 fache Verdünnung der obigen.



die Annahme für berechtigt, daß es sich bei den Reaktionen in den Versuchen 1, 2, 3, 4 in Tab. V und 1, 2, 3, 4 in Tab. VI um echte Spirochäten-anaphylaxien handelte.

Daß man durch Vorbehandlung von Tieren mit Parasiten, die aus dem Blut eines anderen Tieres stammen, eine Überempfindlichkeit gegen das Eiweiß des früheren Wirtstieres erzeugen kann, haben Uhlenhuth und Schern schon früher beobachtet; aber es ist doch einigermaßen bemerkenswert, daß dies auch noch der Fall ist bei Parasiten, die so häufig (15mal!) mit großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden sind.

Besonders hervorzuheben wäre noch die Tatsache, daß man, wie aus Tab. VI hervorgeht, mit Spirochäten, die 10 Min. lang auf 96 bis 98° C erhitzt wurden, ebenso sicher eine Anaphylaxie erzeugen kann wie mit frischen, ungekochten Spirochäten.

2. Aktive Anaphylaxie mit Milzbrandbazillen.

Nach den Angaben der meisten Autoren gehört der Milzbrandbazillus zu jenen — immer spärlicher werdenden — Bakterien, mit denen die Erzeugung einer aktiven Anaphylaxie nicht gelingt. Besonders Sobernheim[1], der bei der Nachprüfung der Angaben von Rosenau und Anderson[2] zu völlig negativen Ergebnissen kam, kommt auf Grund seiner Versuche zu der Ansicht, daß es beim Milzbrandbazillus nicht gelinge, aktive Anaphylaxie zu erzeugen. Die weiteren Versuche von B. Busson bedeuten insofern eine gewisse Einschränkung dieses Standpunktes, als es ihm wenigstens für die „muköse Spielart" des Milzbrandbazillus gelang „im Anaphylaxieversuche beim Meerschweinchen gegenüber den Kontrollen eine Temperatursteigerung zu erzielen, die im Sinne Friedbergers und Mitas als pyrogene Anaphylatoxinwirkung aufgefaßt werden kann".

Sobernheim hat bei der Reinjektion filtrierte Extrakte von Milzbrandbazillen benutzt, deren Eiweißgehalt so gering war, daß die Kochprobe negativ ausfiel, und nur auf Essigsäurezusatz ganz leichte Trübung auftrat. Busson[3] hat 1·5 bzw. 2 Ösen Milzbrandbakterien bei der Reinjektion eingespritzt.

Aus diesen Angaben schöpften wir die Vermutung, daß die Ursache der negativen Ergebnisse bei den Versuchen von Sobernheim und von Busson darin lag, daß bei der Reinjektion viel zu geringe Bakterieneiweißmengen eingespritzt wurden.

[1] *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* Bd. V. S. 619.

[2] Treasury Department. *Hygienic Labor. Bull.* Nr. 36. Washington 1907.

[3] *Zeitschrift für Immunitätsforschung.* 1913. Bd. XII. S. 671.



Wir stellten darum neue Versuche über Milzbrandanaphylaxie an, indem wir an drei aufeinander folgenden Tagen Meerschweinchen mit je ½ Schrägagarkulturen subkutan vorbehandelten und nach etwa 3 Wochen eine Schrägagarkultur, die bei den nicht vorbehandelten Tieren keine akuten Erscheinungen macht, reinjizierten.

Ausgehend von der Vorstellung, daß bei der Bakterienanaphylaxie das an der Reaktion beteiligte Eiweiß erst in Lösung gehen muß, damit es zur Reaktion kommen kann, haben wir einigemal für die Reinjektion autolysierte Bazillenaufschwemmungen, d. h. Bazillenaufschwemmungen, die 24 bis 48 Stunden lang bei 37° gestanden hatten, verwendet, weil bei der Injektion dieser autolysierten Bazillenaufschwemmung auf einmal größere Mengen gelösten spezifischen Bakterieneiweißes einverleibt werden (Versuch 6 bis 10 in Tab. VII).

Für diese Versuche über Milzbrandanaphylaxie wurde ein gewöhnlicher Laboratoriumsstamm benutzt.

Tabelle VII.
Milzbrandbazillen.

Nr.	Vorbehandelt am 29. XI.	Vorbehandelt am 1. XII.	Vorbehandelt am 2. XII.	Reinjiziert am 20. XII.	Wirkung
1	½ Schrägagarkultur (abgetötet) s. c.	½ Schrägagarkultur (abgetötet) s. c.	½ Schrägagarkultur (abgetötet) s. c.	1 Schrägagarkultur i. v.	nach 2 Min. **starke Krämpfe**, fällt um, erholt sich wieder
2	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	sofort **starke Krämpfe**. Kot-, Urinabgang, erholt sich wieder
3	„	„	„	„	Atemnot —, Brechbewegungen, Lähmung der hint. Extremitäten
4	„	„	„	„	**starke Krämpfe**, † 5′
5	„	„	„	„	Atemnot
6	„	„	„	48 Std. bei 37° C autolysierte Baz.-Aufschwemmung (1 Kultur)	sofort **starke Krämpfe**: fällt um, erholt sich wieder
7	„	„	„	desgl.	**leichte Krämpfe**
8	„	„	„	„	„ „
9	„	„	„	„	sofort **leichte Krämpfe**. Nach 2 Min. **starke Krämpfe**, † 8′
10	„	„	„	„	**starke Krämpfe**, † 3′
11	—	—	—	„	0
12	—	—	—	„	0

Aus den Versuchen der Tabelle VII geht hervor, daß man durch 3malige Vorbehandlung von Meerschweinchen mit je ½ Schrägagarkultur



(abgetötete Bazillen) und Reinjektion einer Schrägagarkultur schweren und typischen anaphylaktischen Shok hervorrufen kann. Nicht vorbehandelte Tiere vertrugen die Einspritzung einer ganzen Agarkultur, ohne daß irgendwelche mit Anaphylaxie verwechselbare akute Erscheinungen auftraten.

Die anaphylaktischen Erscheinungen waren nach der Injektion der autolysierten Bazillen etwas stärker, doch war der Unterschied nicht so ausgesprochen, wie wir erwartet hatten, wohl deswegen, weil die Erscheinungen schon bei den nichtautolysierten Bazillen ungewöhnlich schnell und schwer einsetzten.

3. Aktive Anaphylaxie mit einigen anderen Bakterienarten (B. Paratyphus B, B. Friedländer und Micrococcus candicans).

Im folgenden seien noch Versuche über aktive Anaphylaxie mit anderen Bakterienarten: B. Paratyphus B, B. Friedländer und Micrococcus candicans mitgeteilt, bei denen zum Teil ebenfalls Vergleiche angestellt wurden über die Wirkung autolysierter und nichtautolysierter Bakterien bei der Reinjektion.

Tabelle VIII.
Paratyphus.

Nr.	Vorbehandelt am			Reinjiziert am	Wirkung
	25. IX.	28. IX.	1. XI.	20. XI.	
1	1/3 Kultur (abgetötet) s. c.	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	3/4 Kultur (abgetötet) s. c.	1 Kultur (frisch) i. v.	leichte Erscheinungen
2	desgl.	desgl.	desgl.	1 Kulturabschwemmung (3h bei Zimmertemperatur)	Atemnot — leichte Krämpfe, erholt sich
3	„	„	„	desgl.	desgl.
4	„	„	„	„	**akute starke Krämpfe,** † 4′
5	„	„	„	„	protrahierte anaphylaktische Erscheinungen
6	„	„	„	1 Kulturabschwemmung (4 Tage bei 37°)	**akute starke Krämpfe,** † 3′
7	„	„	„	desgl.	desgl.
8	„	„	„	„	protrahierte Krämpfe, † 10′
9	„	„	desgl. † 2. XI.	—	—
10	„	„	desgl. † 2. XI.	—	—
11	„	„	desgl. † 4. XI.	—	—
12	„	„	desgl. † 3. XI.	—	—

Tabelle IX.
B. Friedländer.

Nr.	Vorbehandelt am			Reinjiziert am	Wirkung
	5. X.	7. X.	10. X.	29. X.	
1	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	1/3 Kultur (abgetötet) s. c.	1 Kultur (frisch abgeschwemmt) i. v.	nach 5 Minuten leichte Krämpfe, erholt sich
2	desgl.	desgl.	desgl. † 12. X.	—	—
3	"	"	desgl. † 12. X.	—	—
4	"	"	desgl.	1 Kultur (frisch abgeschwemmt) i. v.	sofort Krämpfe, † 5'
5	"	"	"	1 Kultur (2 Tage bei 37° autolysiert)	sofort heftige Krämpfe, † 3'
6	"	"	"	desgl.	desgl.
7	"	"	"	"	"
8	"	"	desgl. † 12. X.	—	—

Tabelle X.
Micrococcus candicans.

Nr.	Vorbehandelt am			Reinjiziert am	Wirkung
	20. XII.	22. XII.	24. XII.	14. I.	
1	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	1/2 Kultur (abgetötet) s. c.	1 Kultur i. v.	keine Erscheinungen
2	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	" "
3	"	"	"	"	" "
4	"	"	"	"	leichte Atemnot
5	"	"	"	"	keine Erscheinungen

Wie aus Tabelle X hervorgeht, gelang es uns beim Micrococcus candicans nicht, eine deutliche Anaphylaxie zu erzeugen.

Dagegen weisen die mit Paratyphus B (Tab. VIII) und mit B. Friedländer (Tab. IX) vorbehandelten Tiere bei der Reinjektion deutliche, zum Teil schwere zum Tode führende anaphylaktischen Erscheinungen auf. Auch hier war bei der Reinjektion die Wirkung der autolysierten Bakterien im allgemeinen etwas stärker wie die der nichtautolysierten; doch war der Unterschied nicht so groß, wie wir erwartet hatten.



Zusammenfassung.

1. Wenn man bei Organen, die in Alkohol aufbewahrt waren, ihre Herkunft mit Hilfe der anaphylaktischen Reaktion bestimmen will, so empfiehlt es sich, die Meerschweinchen nicht mit wässerigen Extrakten, sondern mit Aufschwemmungen der Organe vorzubehandeln, da so der Nachweis der Herkunft der Organe noch nach Jahren (in unseren Versuchen bis zu 11 Jahren) gelingt, während bei Verwendung von Extrakten dieser Nachweis schon nach etwa 10 Tagen nicht mehr möglich ist, weil kein Eiweiß mehr in Lösung geht.

2. Man kann mit gewaschenen Hühnerspirochäten echte aktive Anaphylaxie erzeugen. Durch das den Spirochäten trotz gründlichen Waschens noch anhaftende Hühnereiweiß kommt es gleichzeitig zur Ausbildung einer Anaphylaxie gegen Hühnerserumeiweiß.

3. Entgegen den Angaben von Sobernheim u. a. ist es uns leicht gelungen, auch mit Milzbrandbazillen aktive Anaphylaxie zu erzeugen.

Ebenso konnten wir durch Vorbehandlung mit B. Paratyphus B und mit B. Friedländer eine starke Anaphylaxie hervorrufen, während wir beim Micrococcus candicans keine deutliche Überempfindlichkeit erzielten.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i/Pr.]
(Direktor: Prof. Dr. Kisskalt.)

Über den Einfluß der organischen Substanzen auf die Desinfektion des Trinkwassers mit Chlor.

Von

Dr. **Ekrem Haïri**
aus Konstantinopel.

Schon die ersten Arbeiten über die Desinfektion des Trinkwassers mit Chlor haben einen Punkt hervorgehoben, der in der Praxis von großer Wichtigkeit werden kann. Wie bei mehreren anderen Desinfektionsmitteln, z. B. bei Sublimat, zeigt sich nämlich auch hier, daß die Anwesenheit von organischen Substanzen die Wirkung hemmen kann. — Die experimentellen Untersuchungen über diesen Punkt sind allerdings nicht zahlreich. Lode (1) hat gefunden, daß in einem Wasser mit einem $KMnO_4$-Verbrauch von 115 mg pro Liter Colibazillen durch 4 pro Million Chlor nicht, nach 40 Minuten durch 8 pro Million erst nach 5 Minuten getötet werden; das Wasser stammte aus einem Springbrunnen und stagnierte seit längerer Zeit. In weiteren Versuchen töteten bei 9·2 mg $KMnO_4$ 4 pro Million nicht nach 60 Minuten, 8 pro Million nach 2 Minuten. Bei 88 mg $KMnO_4$ 4 pro Million nicht nach 30 Minuten, 8 pro Million nicht nach 10, dagegen nach 30 Minuten, 16 pro Million nach 2 Minuten; das zweite Wasser stammte aus einem Tümpel, das dritte aus dem Bottich des Springbrunnens. Bei künstlicher Verunreinigung mit faulendem Harn wurden die Bazillen bei 25.7 und 51.4 mg $KMnO_4$ nach 2 bzw. 5 Minuten durch 2 pro Million, bei 257 mg $KMnO_4$ durch 4 oder 8 pro Million nicht nach 10 Minuten, dagegen nach 30 Minuten, durch 16 pro Million nicht



nach 2, dagegen nach 5 Minuten getötet. Die Untersuchung geschah durch Bouillon, in dem letzteren Falle durch Gelatineplatten. Neben der Bestimmung des $KMnO_4$-Verbrauchs wurde auch das schließlich noch vorhandene Chlor kolorimetrisch geschätzt. — Rideal (2) ist der Meinung, daß die Quantität des aktiven Chlors nicht der gesamten Quantität der organischen Substanzen, sondern denjenigen proportional sein muß, die leicht oxydieren. Grimm (3) fand, daß im Leitungswasser mit 15^{mg} $KMnO_4$-Verbrauch Colibazillen durch 36 bis 54 pro Million abgetötet wurden. Dagegen im Wasser, das durch Bouillon einen $KMnO_4$-Verbrauch von 123^{mg} erhalten hatte, durch 36 pro Million, bei 316^{mg} $KMnO_4$, durch 54 pro Million, bei 664^{mg} $KMnO_4$ durch 90 pro Million noch nicht, dagegen durch 54 bzw. 72 bzw. 108 (Versuchsanordnung siehe später).

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß bei einem größeren Gehalte des Wassers an organischen Substanzen mehr Chlor zugesetzt werden muß. Hiermit stimmen auch die von anderen Autoren ausgesprochenen Meinungen überein. Lowther (4) dagegen richtet nur nach der Zahl der vorhandenen Bakterien den Chlorzusatz. Nach unseren Anschauungen ist dies unrichtig, denn die Keime machen nach Rubner (5) nur rund 0·0001 Prozent des Gewichts der gesamten organischen Substanzen eines normalen Wassers aus.

Es ist also, wenn ein Wasser mit Chlor desinfiziert werden soll, notwendig, die Menge des Chlors nach den vorhandenen organischen Substanzen zu richten. Zweckmäßig wird man zunächst ausprobieren, welche Menge alle sporenfreien Keime tötet. Manchmal aber wird dies nicht möglich sein, wenn z. B. die Desinfektion schnell durchgeführt werden muß. Auch können zeitweilig z. B. Industrieabwässer in den Fluß eingelassen werden, so daß das Wasser eine wechselnde Beschaffenheit hat. Es ist daher notwendig, die betreffenden Substanzen direkt zu bestimmen.

Zur Bestimmung der organischen Substanzen werden in der Praxis zweierlei Methoden angewendet. Die eine ist die Bestimmung des Glühverlustes; für unsere Zwecke kommt sie nicht in Betracht. Noch niemand hat daran gedacht, und unsere Versuche werden zeigen, daß sie ganz falsche Resultate ergeben würde.

Die zweite ist die Bestimmung der Oxydierbarkeit mit $KMnO_4$. Sie wurde für diese Zwecke wohl stets benutzt.

Nun haben aber die Untersuchungen von Lode und auch von Grimm kein Parallelgehen zwischen $KMnO_4$-Verbrauch und hemmender Wirkung ergeben; ferner haben frühere Untersuchungen (6) gezeigt, daß verschiedene Substanzen durch $KMnO_4$ ganz verschieden oxydiert werden, so verbrauchen (7) z. B.:

Weinsäure	0·40	statt	0·533;	Traubenzucker	0·457	statt	1·066;
Rohrzucker	0·605	„	1·123;	Benzoesäure	0·043	„	1·967;
Asparagin	0·112	„	0·96;	Harnstoff	0·00	„	0·800;
Leucin	0·217	„	2·017;	Salzs. Anilin	1·302	„	1·915.

Man sieht daraus, daß manche Stoffe fast ganz, andere nur zu 50 Prozent, andere nur zu 10 Prozent, andere gar nicht durch $KMnO_4$ oxydiert werden. Es könnte nun leicht sein, daß sich diese Stoffe gegen Chlorkalk ganz anders verhalten, und somit aus den üblichen Bestimmungen der Oxydierbarkeit sich keine Schlüsse auf die hemmende Wirkung von Chlorkalk ziehen lassen.

Um dies zu untersuchen, wurden eine Anzahl von Versuchen angestellt. Die Versuchstechnik war genau so, wie sie **Grimm** in seiner Arbeit verwendet hatte. Es wurde also zunächst eine Lösung des zu untersuchenden Körpers in destilliertem Wasser hergestellt, welche rechnerisch der gewünschten Oxydierbarkeit ungefähr entsprach; dann, wenn nötig, verdünnt, hierauf sterilisiert und dann definitiv die Oxydierbarkeit bestimmt. Hierauf wurde von einer Chlorkalklösung eine entsprechende Menge zugesetzt, dann eine Aufschwemmung einer 24stündigen Colikultur; und zwar wurde eine Öse in 50 ccm sterilem Wasser aufgeschwemmt, und 1 ccm davon genommen, dann eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen, und nach dem Neutralisieren des Chlors 100 ccm in Bouillon gebracht; manchmal auch in ein anderes Kölbchen 1 ccm. Platten wurden nicht gegossen. Von den bei den stärksten Konzentrationen von Chlorkalk gewachsenen Keimen wurde zur Sicherheit auf Drigalskiplatten ausgestrichen.

Es war beabsichtigt, daß die Oxydierbarkeit teils etwa 170, teils etwa 35 mg $KMnO_4$ pro Liter betragen sollte. Zunächst wurde eine 0·014prozentige Lösung von weinsaurem Natron verwendet. Die Oxydierbarkeit betrug etwa 184 mg pro Liter. Der zweite Versuch wurde mit Harnstoff angestellt. Dieser wird durch $KMnO_4$ fast gar nicht angegriffen. Es wurde daher eine 1prozentige Lösung genommen, deren Oxydierbarkeit 6·6 pro Liter betrug (vgl. Tabelle I). Beim Einbringen von nur 1 ccm war das Ergebnis dasselbe.

Weinsäure hat also eine äußerst schwach hemmende Wirkung, Harnstoff eine ziemlich starke, wenn man die Oxydierbarkeit, eine äußerst schwache, wenn man den Glühverlust als Maßstab für die organischen Substanzen nimmt.

Der dritte und vierte Versuch geschahen mit Traubenzucker. Eine Lösung hatte 0·023 Prozent, die andere 0·095 Prozent. Die Oxydierbarkeit betrug 40 bzw. 169 mg $KMnO_4$ pro Liter. Das Resultat war das auf Tabelle I angegebene. Die schwächere Lösung ergab keine Abtötung

bei 1 und 3 pro Million, dagegen bei 6, 12, 24, 48, 96; die stärkere ergab keine Abtötung bei 1, 3, 6, 12 pro Million. Die hemmende Wirkung ist also bei der vierfach größeren Menge Traubenzucker viermal so stark.

Der fünfte und sechste Versuch geschahen mit Pepton. Die Lösungen waren 0·0025 bzw. 0·014prozentig. Die Oxydierbarkeit betrug 30 bzw. 173 mg $KMnO_4$. Die wirksame Konzentration wird nicht entsprechend der Lösung hinaufgesetzt, sondern wesentlich niedriger. Das weitere ergibt die Tabelle.

Die folgenden beiden Versuche wurden mit Asparagin vorgenommen, das nach Tiemann und Preusse nur zu 10 Prozent oxydiert wird. Die Lösungen enthielten 0·02 bzw. 0·085 Prozent; $KMnO_4$-Verbrauch 32 bzw. 155. Wie sich aus der Tabelle ergibt, ist die hemmende Wirkung des Aspagarins eine außerordentlich starke. Eine Abtötung wurde bei beiden mit 96 pro Million nicht erreicht.

Tabelle I.

Freies Chlor	Weinsaures Natron 184 mg $KMnO_4$	Harnstoff 1 Prozent 6·6 mg $KMnO_4$	Traubenzucker 40 mg $KMnO_4$	Traubenzucker 161 mg $KMnO_4$	Pepton 30 mg $KMnO_4$	Pepton 173 mg $KMnO_4$	Asparagin 32 mg $KMnO_4$	Asparagin 155 mg $KMnO_4$
1 : 1 Million	+	+	+	+	+	+	+	+
3 : 1 „	0	+	+	+	+	+	+	+
6 : 1 „	—	—	0	+	+	+	+	+
9 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—
12 : 1 „	—	—	0	+	+	+	+	+
18 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—
24 : 1 „	—	—	0	0	0	+	+	+
36 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—
48 : 1 „	—	—	0	0	0	0	+	+
72 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—
96 : 1 „	—	—	0	0	0	0	+	+
288 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—
576 : 1 „	0	0	—	—	—	—	—	—

+ bedeutet Wachstum; 0 bedeutet kein Wachstum; — bedeutet nicht untersucht.

Man findet in der Tabelle das Ergebnis, das ausfiel, wie wir erwartet hatten. Es zeigt sich absolut kein Parallelgehen zwischen Oxydierbarkeit durch $KMnO_4$ und hemmender Wirkung. Weinsäure z. B., die von $KMnO_4$ außerordentlich leicht angegriffen wird, hemmt auch nicht bei äußerst starker Konzentration, wenn nämlich die Lösung 184 mg $KMnO_4$-Verbrauch pro Liter hat. Traubenzucker hemmt sehr schwach, Pepton stärker, ganz außerordentlich groß ist die Wirkung des Asparagins.



Nachdem die Untersuchungen mit diesen reinen Körpern, deren chemische Konstitution, abgesehen von geringen in dem Produkt selbst und in destilliertem Wasser enthaltenen Verunreinigungen bekannt war, beendigt waren, wurde untersucht, wie sich Stoffe, die normalerweise in Wasser enthalten sein können, verhalten. Auch diese Stoffe können ja eine ganz verschiedene Konstitution haben. In reinen Brunnen und Flüssen allerdings dürfte es sich ganz überwiegend um Humine, Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe, stickstoffhaltige basische Körper handeln (8). In den Gegenden Deutschlands aber, welche vorzugsweise an die Chlordesinfektion des Trinkwassers denken, kommen die verschiedensten Fabrikabwässer hinein. So berichtet Litterscheid (9), daß die Abwässer einer Holzdestillation in die Ruhr gelangten, und durch die Chlorbehandlung dieses Wassers ein höchst unangenehmer Geschmack entstand, der vor derselben nicht vorhanden war.

Tabelle II.

Freies Chlor	Leitungswasser 20^{mg} $KMnO_4$	4. III. 13		28. II. 13		13. II. 13	Brauerei-abwässer 170^{mg} $KMnO_4$	Zellulosefabrik-abwässer 140^{mg} $KMnO_4$	Meiereiabwässer 152^{mg} $KMnO_4$	Städtische Abwässer 162^{mg} $KMnO_4$	Mooriges Wasser 30^{mg} $KMnO_4$
		Flußwasser 66^{mg} $KMnO_4$	Flußwasser 33^{mg} $KMnO_4$	Flußwasser 34^{mg} $KMnO_4$	Flußwasser 54^{mg} $KMnO_4$	Flußwasser 34^{mg} $KMnO_4$					
1 : 1 Million	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 : 1 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 : 1 "	0	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0
9 : 1 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 : 1 "	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0
18 : 1 "	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24 : 1 "	—	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
36 : 1 "	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
48 : 1 "	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72 : 1 "	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
96 : 1 "	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
288 : 1 "	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
576 : 1 "	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Es wurde zunächst Leitungswasser untersucht. Die Oxydierbarkeit betrug 20^{mg} $KMnO_4$ pro Liter. Wie aus der Tabelle II zu ersehen ist, werden Colibazillen durch ein und drei pro Million nicht getötet, aber durch 5, 7, 12, 20, 30, 35, 60 pro Million. Hier wurden übrigens nicht nur 100^{ccm}, sondern auch 1^{ccm} in Bouillon verimpft. Es ergab sich Wachstum bei 1, dagegen nicht bei 3, 5, 7 usw. — Interessant ist der Vergleich mit den Ergebnissen Grimms, der in dem Berliner Leitungswasser mit 15^{mg} $KMnO_4$-Verbrauch erst bei 36 oder 54 pro Million eine Abtötung erzielte. Vielleicht ist dies auf eine verschiedene Widerstandsfähigkeit der verwendeten Colistämme zurückzuführen, vielleicht aber auch darauf, daß

das Berliner Wasser zum allergrößten Teil Grundwasser, das Königsberger Oberflächenwasser ist, und die organischen Bestandteile eine verschiedene Beschaffenheit haben, so daß sie leichter durch das Kaliumpermanganat, oder anderseits durch den Chlorkalk angegriffen werden. Auch Schwarz und Nachtigall (10) kamen bei dem Elbwasser mit geringen Chlorkalkmengen aus.

An mehreren Tagen wurde Flußwasser entnommen und untersucht. Das Wasser des Pregel kann eine ganz verschiedene Zusammensetzung haben: oberhalb Königsbergs liegt eine Zellulosefabrik, welche einen kleinen Teil ihrer Abwässer in den Fluß einläßt; unterhalb der Stadt liegt eine andere, die im Winter die gesammten Wässer einführt. Bei Westwind staut sich der Fluß, und es kommen nicht nur diese Wässer, sondern auch Haffwasser, welches ähnlich wie das Meerwasser beschaffen ist, bis über die Stadt hinaus. — Das Flußwasser zeigte einmal eine Oxydierbarkeit von 34 ^{mg}, einmal eine von 56 und einmal eine von 54. Letztere beiden Wässer wurden auch verdünnt, bis sie etwa 34 ^{mg} $KMnO_4$ verbrauchten, so daß also fünf Untersuchungen über Flußwasser angestellt wurden. Aus der Tabelle ergibt sich, daß die hemmende Wirkung des Flußwassers ganz verschieden war. Bei 34 ^{mg} $KMnO_4$-Verbrauch wuchsen die Bakterien einmal nicht mehr nach Einwirkung von 24 pro Million, zweimal schon nach 3 pro Million. Das Wasser des Pregelflusses kann also manchmal so schwach hemmen wie Traubenzucker, ein anderes Mal so stark wie Peptonlösung von gleicher Oxydierbarkeit. Weiter wurde Zellulosefabrikwasser untersucht. Es hemmte jedoch nur schwach.

Daher nahmen wir an, daß Huminbestandteile, die dem Flusse mit dem Grundwasser und den Bächen zulaufen, jene Wirkung des Flußwassers hervorgerufen hätten. Zu diesem Zwecke wurde Wasser aus der kleinen, durch moorige Gegenden fließenden Laake entnommen, welche das ganze Jahr eine bräunliche Farbe hat. Es wurde auf eine Oxydierbarkeit von 30 ^{mg} verdünnt. Seine hemmende Wirkung war jedoch so schwach, daß die einmal beobachtete stark hemmende Wirkung des Flußwassers nicht dadurch erklärt werden könnte. Vielleicht beruht sie auf Abschwemmung von Dünger von den Feldern oder darauf, daß Abwässer einer weit oberhalb gelegenen Zellulosefabrik, die in den Fluß gelangen, erst nach teilweiser Zersetzung eine besonders stark hemmende Wirkung ausüben.

Brauereiabwasser, Meiereiabwasser und städtisches Abwasser ergeben bei Verdünnung auf dieselbe Oxydierbarkeit gleiche Resultate. Besonders wichtig wären uns Abwässer von Betrieben gewesen, welche für die chemische Industrie in Betracht kommende Produkte enthalten. Leider konnten wir solche nicht bekommen. An ihrer Stelle müssen uns die zuerst untersuchten bekannten Stoffe zum Vergleich dienen.



Alles in allem ergeben die Untersuchungen, daß Wässer von der gleichen Oxydierbarkeit ganz verschiedene Mengen Chlor bei der Desinfektion brauchen. Bei einer Oxydierbarkeit von 30 bis 35 mg braucht Weinsäure drei Teile Chlor pro Million; Flußwasser manchmal 6 oder 12 pro Million; mooriges Wasser, Traubenzuckerlösung etwa ebensoviel; Peptonlösung 24, Flußwasser ein anderes Mal 48, Leitungswasser nach Grimm 36 bis 54. Asparagin mehr als 96. Bei einer Oxydierbarkeit von 140 bis 184 zeigen sich ebenfalls große Unterschiede.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß die Oxydierbarkeit kein Maßstab für die Substanzen ist, welche bei der Desinfektion von Trinkwasser mit Chlor hemmend wirken. Wenn sie auch einigen Anhalt gibt, so trifft sie doch in sehr häufigen Fällen nicht zu. Ich habe daher nach einer besseren Methode gesucht und das Bindungsvermögen der organischen Substanzen direkt bestimmt. Allerdings scheint nicht die Chlorierung, sondern die Oxydierung der Bakterien das wirksame zu sein (11). Anderseits kann natürlich Chlor nicht mehr oxydierend wirken, wenn es durch organische Stoffe gebunden ist. Die Untersuchung wurde in folgender Weise vorgenommen. Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde mit Chlorkalklösung im Überschuß (13 mg wirksames Chlor) versetzt, und nach 1 Stunde in schwach saurer Lösung austitriert (12). Die folgende Tabelle zeigt die Resultate.

Tabelle III.

	$KMnO_4$-Verbrauch pro Liter	Chlorbindende Kraft von 100 ccm	Noch positiv bis	
Destilliertes Wasser . .	0·16 mg	0·3 mg Chlor	—	
Leitungswasser . . .	20 „	0·9 „ „	3:1 Million +	
Weinsaures Natron . .	184 „	0·4 „ „	1:1 „ +	
Flußwasser	66 „	2·5 „ „	3:1 „ +	} 4. III. 13
Flußwasser	33 „	1·8 „ „	3:1 „ +	
Flußwasser	34 „	1·57 „ „	6:1 „ +	} 28. II. 13
Flußwasser	54 „	2·6 „ „	3:1 „ +	
Flußwasser	34 „	9·6 „ „	26:1 „ +	13. II. 13
Brauereiabwässer . . .	170 „	2·6 „ „	6:1 „ +	
Zellulosefabrikabwässer	140 „	2·2 „ „	12:1 „ +	
Meiereiabwässer . . .	152 „	—	6:1 „ +	
Städtisches Abwasser .	162 „	—	6:1 „ +	
Mooriges Wasser . . .	30 „	2·1 „ „	3:1 „ +	
Harnstoff	6·6 „	2·8 „ „	3:1 „ +	
Traubenzucker . . .	40 „	1 „ „	3:1 „ +	
Traubenzucker . . .	169 „	1·6 „ „	12:1 „ +	
Pepton	30 „	5·7 „ „	12:1 „ +	
Pepton	173 „	7·6 „ „	24:1 „ +	
Asparagin	32 „	>13 „ „	96:1 „ +	
Asparagin	155 „	>13 „ „	96:1 „ +	

Sie bestätigt unsere Vermutung.

Diejenigen Flüssigkeiten, natürliche oder künstliche, welche eine starke hemmende Wirkung zeigten, hatten auch einen starken Chlorverbrauch: am meisten Asparagin; von da an fallen die Kurven ungefähr parallel ab. Bei stärkerer und schwächerer Konzentration mancher Stoffe, z. B. des Peptons, geht die chlorbindende Wirkung der Konzentration nicht parallel, aber auch nicht die hemmende Wirkung. Die Ursachen liegen darin, daß beide den Gesetzen der monomolekularen Reaktionen folgen, wie für die Desinfektion von Abwasser mit Chlorkalk Glaser (13) im einzelnen ausgeführt hat. Die Bestimmung der chlorbindenden Wirkung ist also ein viel besseres Mittel als die Bestimmung der Oxydierbarkeit und stets auszuführen.

Die Desinfektion des Wassers wird stets ein Notbehelf bleiben. Der Geschmack ist oft schlecht und die Wirkung unsicher.

Man hat darauf verwiesen, daß auch durch die beste Filtration nicht alle Keime aus dem Wasser entfernt werden, sondern daß von 7000 oder 3000 Keimen des Rohwassers sich einer im Filtrat befindet. Doch dürfen die beiden Verfahren miteinander nicht verglichen werden. (Kisskalt.) Typhusbazillen befinden sich im Rohwasser teils einzeln, teils in kleinen Häufchen, z. B. an Muskelfäserchen. Durch die Filtration werden letztere sämtlich entfernt. — Das Chlor dagegen wirkt vermutlich besonders auf die ersteren ein, da die in der Tiefe sitzenden von ihm weniger oder nicht betroffen werden. Bei der Untersuchung ergibt jedoch ein Bazillenhäufchen nur eine Kolonie wie ein einzelner Bazillus, obwohl eine Infektion mit ersteren zweifellos gefährlicher ist als mit letzteren.

Zusammenfassung.

1. Ein Wasser, welches größere Mengen organischer Substanz enthält, verbraucht bei seiner Desinfektion mit Chlor größere Mengen von diesem, als ein Wasser, das ärmer daran ist.

2. Aus der Bestimmung der organischen Substanzen mit Kaliumpermanganat können keine Schlüsse auf die hemmende Wirkung gezogen werden.

3. Viel bessere Resultate ergibt die Bestimmung der chlorbindenden Kraft.

Herrn Prof. Kisskalt danke ich zum Schlusse für die Anregung zu dieser Arbeit.



Literatur.

1. Lode, *Archiv für Hygiene.* 1895. Bd. XXIV. S. 236.

2. Rideal, Zitiert bei Antonowsky. *Diese Zeitschrift.* 1912. Bd. LXXII. S. 241.

3. Grimm, *Mitteilungen aus der Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung.* 1912. Hft. 16. S. 297.

4. Lowther, *Engineering Record.* 1912. Vol. LXV. p. 555. Ref.: *Wasser und Abwasser.* 1912/13. Bd. VI. S. 271.

5. Rubner, *Lehrbuch der Hygiene.* 8. Aufl. S. 338.

6. Literatur am ausführlichsten bei Flügge, *Hygienische Untersuchungsmethoden.* 1881. S. 251.

7. Tiemann u. Preusse, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.* 1879. 12. II. S. 1906.

8. K. B. Lehmann, *Die Methoden der praktischen Hygiene.* Wiesbaden 1901. S. 223.

9. Litterscheid, Diskussionsbemerkung. *Hygienische Rundschau.* 1912. Bd. XXII. S. 1415.

10. Schwarz u. Nachtigall, *Gesundheits-Ingenieur.* 1912. Bd. XXXV. S. 256.

11. Antonowsky, *Diese Zeitschrift.* 1912. Bd. LXXII. S. 241.

12. Ohlmüller u. Spitta, *Untersuchung des Wassers und Abwassers.* 1910.

13. Glaser, *Archiv für Hygiene.* 1912. Bd. LXXVII. S. 165.

Die entwicklungshemmende und die bakterizide Wirkung des Liquor Aluminii acetici.

Von

Dr. **Hugo Kühl**,
Kiel.

Die bakterizide Wirkung der essigsauren Tonerde wurde im Jahre 1908 von Aufrecht (1) geprüft. Nach diesem Autor tötet die 4 prozentige Lösung (des damals offiziellen Präparates) Typhusbazillen in 20 Minuten, Bacterium coli in 10 Minuten, Diphtheriebazillen in 20 Minuten, Streptokokken in 60 Minuten. Staphylokokken gingen in einer 8 prozentigen Lösung nach 30 Minuten zugrunde. Weitere Untersuchungen ergaben, daß die Karbolsäure in der Wirkung den Liquor Aluminii subacetici übertraf, Alsol wiederum wirkungsvoller war als beide soeben genannte Antiseptika.

Die Bedeutung der essigsauren Tonerde für die antiseptische Wundbehandlung, für die Pflege der Mundhöhle usw. veranlaßt mich, einmal die entwicklungshemmende Kraft des Präparates, sodann seine bakterizide Wirkung zu prüfen.

Der Liquor Aluminii subacetici des deutschen Arzneibuches ist kein beständiges Präparat, bei ungünstiger Aufbewahrung erleidet er in verhältnismäßig kurzer Zeit Veränderungen, die sich zunächst in Trübungen, dann in Ausscheidungen kund geben. Das Arzneibuch, Ausgabe III, stellte als Forderung auf, daß die essigsaure Tonerde in 100 Teilen 7·5 bis 8 Teile basisches Aluminiumacetat enthalte, nach der Ausgabe V, welche eine etwas veränderte Vorschrift zur Herstellung gibt, werden 7·3 bis 8·3 Teile basisches Aluminiumacetat in 100 Teilen des Präparates verlangt. Es sind also in bezug auf den Gehalt an wirksamer Substanz keine nennenswerte Differenzen vorhanden. Vielmehr ist dieses der Fall, wenn wir alte abgesetzt habende Präparate mit neuen vergleichen, so konnte ich feststellen, daß ein etwa zwei Jahre altes Präparat, das stark abgesetzt hatte,



in 100 Teilen des Filtrates nur noch 5·93 Teile basisches Aluminiumacetat enthielt. Croner (2) sagt, „die Nachteile, die der essigsauren Tonerde anhaften, sind: schwankender Gehalt an Essigsäure, geringe Haltbarkeit und Veränderlichkeit des Präparates unter Ausscheidung von basischem Acetat und die Unmöglichkeit, den Körper in fester Form darzustellen". Der schwankende Gehalt an Essigsäure wird bei frisch dargestellten Präparaten nicht in Frage kommen, wenn die Vorschrift zur Darstellung genau innegehalten wird, er wird sich aber bemerkbar machen nach längerem Aufbewahren des Präparates, weil dann die von mir kurz erwähnten Veränderungen vor sich gehen. Da die anorganischen Aluminiumsalze eine geringere Desinfektionswirkung besitzen als das organische, welches in der essigsauren Tonerde vorliegt, sind sie als Ersatz nicht zu verwenden.

Man wird geneigt sein, die desinfizierende Wirkung der essigsauren Tonerde lediglich oder doch in ersterer Linie dem Gehalte an Essigsäure zuzuschreiben. Dem widersprechen aber die Untersuchungen von Hailer (3), welcher die Desinfektionswirkung der Schwefel-, Oxal-, Zitronen-, Wein-, Essig- und Borsäure gegenüber Staphylokokken verglich und zu dem Ergebnis kam, daß die Schwefelsäure am stärksten bakterizid wirkt, die Essigsäure aber relativ geringere Desinfektionskraft besitzt. Nur in einem scheinbaren Gegensatze hierzu steht die Tatsache, daß die Desinfektionskraft des Wasserdampfes durch Essigsäure wesentlich erhöht wird. Kokubo (4) fand, daß der Kartoffelbacillus in Wasserdampf nach 130 Minuten abgetötet wird, in 1 Prozent Essigsäure haltendem Dampfe dagegen schon nach 40 Minuten. Zunächst kommt hier die erhöhte Temperatur, sodann die Dampfwirkung und endlich die vermehrte Dissoziation der Säure in Betracht. Würde die Essigsäure das lediglich wirksame Prinzip der essigsauren Tonerde sein, so ließe sich das unbeständige basische Aluminiumsalz leicht durch ein in Lösung beständiges anorganisches Salz ersetzen. Das ist aber nicht der Fall.

Krönig und Paul (5) fanden, daß die Desinfektionswirkung der Salze von dreierlei abhängt; 1. von dem Metallion; 2. von den Säureion; 3. von der nicht dissoziierten Molekel; ferner fanden sie, daß die Wirkung der Salze nur eine geringe ist, wenn sie in Alkohol, Äther und ähnlichen Lösungsmitteln gelöst sind, weil hier die Dissoziation der Salze nur sehr klein ist, und endlich konnten sie feststellen, daß die Desinfektionswirkung der Salze durch den Zusatz von Neutralsalzen wesentlich herabgesetzt wird, weil diese der Dissoziation entgegenwirken.

In der essigsauren Tonerde haben wir es nicht mit einer Wirkung der Metallionen und Säureionen zu tun, die bakterizide Wirkung kommt lediglich den basischen Aluminiumsalzen zu.

Auch die Theorie von Spiro und Bruns, die sich auf den Zustand der Verteilung eines Stoffes zwischen zwei oder mehreren Lösungsmitteln stützt, also den Teilungskoeffizienten zwischen Lösungsmitteln des Giftstoffes und Protoplasma des zu tötenden Organismus berücksichtigt, vermag die antiseptische Wirkung der essigsauren Tonerde nicht zu erklären. Wir haben zwei Wirkungen zu unterscheiden, die desinfizierende und die adstringierende, welch letztere die essigsaure Tonerde mit desinfektorisch wirkunglosen Stoffen teilt, z. B. mit der Gerbsäure. Nach der Theorie von Spiro und Bruns müßte diese Wirkung die Desinfektionskraft in Eiweiß oder Schleim haltenden Medien herabsetzen, weil das Aluminiumacetat nicht von dem Plasma gelöst wird, sondern eine oberflächliche Koagulation zur Folge hat, durch welche die Bakterien des Innern in wirksamer Weise geschützt werden. In der Tat ist die Wirkung des Liquor Aluminii acetici als Gurgelwasser in Lösungen 1:50 oder 1:100 zum großen Teil darauf zurückzuführen, daß die Schleimmassen zusammengeballt und mechanisch entfernt werden. Inwieweit pathogene Keime auf diese Weise unschädlich gemacht werden, ergibt sich aus den später anzuführenden Untersuchungen. Die weitgehendste Verwendung fand und findet auch heute noch die essigsaure Tonerde bei der antiseptischen Wundbehandlung, wenn auch hier haltbarere und wirksamere Präparate in den Vordergrund getreten sind. Eine große Tiefenwirkung kann nach dem Gesagten der Liquor Aluminii subacetici nicht besitzen, es ist daher immer ein gutes Auswaschen der Wunden vor Anlegung des Verbandes nötig, zumal wenn wenig blutende, aber unreine Verwundungen vorliegen.

Experimenteller Teil.

Es ist nicht außer acht zu lassen, daß die Prüfung der bakteriziden Kraft des Liquor Aluminii acetici unter ganz anderen Bedingungen geschieht, als sie bei der Wundbehandlung gegeben sind. Der lebende Organismus besitzt an sich bakterizide Kräfte, mögen wir nun die eine oder andere Theorie zugrunde legen. Ausschlaggebend für die Wertbestimmung sind daher nicht Laboratoriumsversuche, sondern die Beobachtungen des praktischen Arztes.

Es schien mir nicht unwichtig zu sein, die entwicklungshemmende Kraft alter und neuer Präparate festzustellen, weil diese für die Praxis am meisten in Betracht kommt; die essigsaure Tonerde dient in erster Linie zur Anlegung eines feuchten Verbandes. Die bakterizide Wirkung interessierte mich nur insofern, als sie Anhaltspunkte liefert für die Beurteilung der Veränderungen, denen das Präparat nun einmal ausgesetzt ist.



Die entwicklungshemmende Kraft des Liquor Aluminii subacetici.

Untersucht wurden drei Präparate: 1. ein frisch dargestelltes; 2. ein aus einer Apotheke bezogenes Präparat; 3. ein altes, trüb gewordenes, das stark abgesetzt hatte, im filtrierten Zustande.

Als Testmaterial verwandte ich einen virulenten Colistamm, den ich als Ursache einer Käsevergiftung ermittelte; die Bakterie war aus dem Herzblut eines Meerschweinchen, das infolge intraperitonaler Injektion eingegangen war, gezüchtet.

Die drei Präparate wurden nebeneinander untersucht, und zwar ging ich in der ersten Versuchsreihe aus von 0·5 prozentigen Lösungen, in der zweiten von 1 prozentigen Lösungen und in der dritten von 5 prozentigen Lösungen des Antispticums in destilliertem Wasser.

Ich verfuhr in der Art, daß ich zu 9 ccm Bouillongelatine, die mit 0·2 ccm einer Bakterienaufschwemmung geimpft war, bestimmte Mengen der soeben erwähnten Lösungen zufügte, unter Beobachtung steriler Verhältnisse. Auf diese Weise erhielt ich verschiedene Konzentrationen im Nährsubtrat. Die Gelatinenährböden wurden in Petrischalen ausgegossen und bei etwa 18° C belassen. Zur Kontrolle wurde jedesmal eine Platte ohne Zusatz des Desinfiziens angesetzt. Die Resultate sind in der beiliegenden Tabellenreihe zusammengestellt.

Prüfungsergebnis der entwicklungshemmenden Kraft des Liquor Aluminii acetici.

Da die an sich wirksame Lösung eines Giftstoffes in äußerst schwacher Konzentration die Entwicklung niederer pflanzlicher Organismen fördert, wurde die Reizwirkung berücksichtigt. In der Tabelle ist als Zeichen der — gewählt. Sobald die Konzentration des Giftstoffes eine bestimmte Stärke erreicht hat, hört die Reizwirkung auf, es kommt eine neutrale Zone und bei wachsender Konzentration dann eine Hemmung, die, sobald eine bestimmte Konzentration erreicht ist, in eine bakterizide übergehen.

1.	0·01	0·05	0·10	0·20	0·25	0·50
	×	—	0	+ +	+ +	+ + +
2.	0·01	0·05	0·10	0·20	0·25	0·50
	×	—	0	+	+ +	+ +
3.	0·01	0·05	0·10	0·20	0·25	0·50
	×	×	—	0	+	+ +

Erklärungen:

Konzentration in der essigsauren Tonerde in Prozenten.

Starke Reizwirkung ×, Reizwirkung —, neutrale Zone 0,

Starke Hemmung + + +, Hemmung + +, mäßige Hemmung +.



Mit Sicherheit festgestellt konnte werden:

1. Daß die essigsaure Tonerde nur sehr geringe entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt im Vergleich mit anderen Desinfektionsmitteln des Arzneischatzes.

2. Daß frisch dargestellte Präparate eine größere entwicklungshemmende Kraft besitzen als alte, in ihrer Zusammensetzung veränderte.

Die bakterizide Kraft des Liquor Aluminii acetici.

Die Versuche wurden zunächst mit 5 prozentigen und 2·5 prozentigen Lösungen angestellt. Als Testbakterien verwandte ich denselben Colistamm in einer Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung; 1 ccm enthielt 75300 Keime. In die Aufschwemmung brachte ich im Autoklaven sterilisierte Leinenläppchen, Größe 2 × 2 cm. Nach völliger Durchfeuchtung unter leichtem Umschwenken brachte ich die Läppchen in die Desinfektionslösungen, beließ 20 Minuten in denselben, spülte dann vorsichtig in je 500 ccm sterilem Wasser aus und brachte sie auf Bouillongelatine in Petrischalen. Beobachtet wurde 4 Tage. Das Resultat war folgendes: Die Präparate 1 und 2 (s. Entwicklungshemmung) wirken in 5 prozentiger Lösung, in der angegebenen Weise geprüft, bakterizid. Das alte veränderte Präparat bedingte in 5 prozentiger Lösung nur eine starke Entwicklungshemmung. In 2·5 prozentiger Lösung war die Entwicklungshemmung wahrnehmbar, während die beiden Präparate 1 und 2 eine starke Entwicklungshemmung in dieser Konzentration herbeiführten. Die beiden Präparate 1 und 2 wurden jetzt noch in einer dritten Versuchsreihe geprüft, ich ging in dieser aus von 4·5 prozentigen Lösungen des Präparates in destilliertem Wasser und verfuhr im übrigen, wie oben angegeben wurde. Das von mir selbst bereitete Präparat mit 8·2 Prozent basischem Aluminiumacetat wirkte bakterizid, während das käuflich erworbene nicht mehr zuverlässig war; es wurden im Durchschnitt von drei Platten 84 Keime gezählt.

Ziehe ich aus meinen Untersuchungen die Schlußfolgerungen, so glaube ich sagen zu können, daß die entwicklungshemmende Kraft des Präparates und die bakterizide Wirkung relativ gering sind, daß neue, noch völlig unzersetzte Präparate bedeutend wirksamer sind als alte, welche sich trübten, absetzten und durch Filtration wieder geklärt wurden.

Trotzdem ist die essigsaure Tonerde als Antisepticum sehr geeignet. Da man mit dem Präparat Verbände anlegt, kommt in erster Linie die entwicklungshemmende Fähigkeit in Betracht. Es würden mithin 1 prozentige Lösungen eines guten Präparates völlig ausreichen. Da man, ohne den Organismus zu schädigen, auch mit fünf- und mehr

prozentigen Lösungen arbeiten kann, ist selbst eine völlige Wunddesinfektion möglich. Die adstringierende Wirkung der essigsauren Tonerde verhütet im hohen Grade ein nachträgliches Verschmutzen des Gewebes und beeinflußt den Heilprozeß günstig. Außerordentlich wichtig ist dies in Gewerbebetrieben, namentlich im Holzbearbeitungsgewerbe, in dem täglich Verwundungen vorkommen, und somit von Nichtärzten Verbände angelegt werden müssen.

Literatur.

1. Aufrecht, Über einige neuere Tonerdepräparate. *Med. Klinik.* 1908. S. 872.

2. Croner, *Lehrbuch der Desinfektion.* Leipzig 1913. S. 131.

3. Hailer, Die Erhöhung der Desinfektionswirkung der Phenole durch Zusatz von Säuren. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1910. Bd. XXXIII. S. 500.

4. Kokubo, Die kombinierte Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und heißer Wasserdämpfe. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1903. I. Bd. XXXII. S. 243.

5. Krönig u. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 1.

6. Spiro u. Bruns, *Archiv f. experim. Pathologie u. Pharmakologie.* 1898. Bd. XLI. S. 355.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg.]
(Direktor: Prof. Dr. Kisskalt.)

Vergiftungserscheinungen durch Zinn nach dem Genusse von Konservenspargel.

Von

Dr. **A. Friedmann,**
Assistenten am Institut.

Veranlassung zu dieser Arbeit gab folgender Fall von Vergiftungserscheinungen nach dem Genusse von Konservenspargel, der sich in der Familie eines hiesigen Arztes ereignet hat. Den Krankenbericht, den der betreffende Herr mir gütigst für die Veröffentlichung zur Verfügung stellte, lasse ich hier folgen:

„Im November Genuß von einer Büchse Konservenspargel beim Mittagsessen, davon meine Frau und ich aßen. Meine Frau erkrankte abends an Schwindel, Brechreiz, Kopfschmerz. Ich bekam Diarrhöe und Übelkeit. Am Tage darauf waren alle Symptome verschwunden.

Am 12. XII. genoß ich allein von derselben Lieferung Konserven 1 Büchse Spargel zum Mittagsessen. Bis Abend Wohlbefinden. Gegen 8 Uhr plötzlich Magenschmerzen und Übelkeit. Nachts 2 Uhr heftiges Erbrechen bei gleichzeitigen profusen Diarrhöen. Gegen Morgen besserte sich der Zustand, doch blieb eine starke Pulsbeschleunigung (140) noch am nächsten Tage zurück. Am 14. XII. wieder vollständiges Wohlbefinden, normaler Puls. Am 14. XII. Blutentnahme.

Die beiden noch übriggebliebenen Spargelkonserven wurden dem hygienischen Institut übergeben.

Beim Zubereiten der Mahlzeit ist das in den Büchsen vorhandene Spargelwasser stets vollständig mit verwendet worden."

Die eingelieferten Konservenbüchsen wurden zunächst eingehend besichtigt. Sie zeigten keine Vorwölbung der Wandungen und auch beim Öffnen machte sich keine Gasentwicklung bemerkbar. Da mit dem In-



halte einige Tierversuche vorgenommen werden sollten, wurde beim Öffnen Bedacht auf möglichst steriles Verfahren genommen. Der Deckel der Büchse wurde zuvor mit geschmolzenem Blei übergossen und dann vorsichtig, so daß keine Teilchen hineinfallen konnten, mit sterilem Konservenmesser von der Seite geöffnet. Die Spargel zeigten ein frisches Aussehen und verbreiteten den typischen Geruch unverdorbener frischer Ware. Die Innenwandungen der Büchse zeigten schwarze Flecken in moiréartiger Zeichnung. Die Spargelsauce reagierte ganz schwach sauer. Nur die den Wandungen anliegenden Spargelstangen zeigten ganz feine schwarz eingefressene Streifen.

Die Tierversuche wurden an weißen Mäusen folgendermaßen ausgeführt. Zwei Tiere wurden mit Brot gefüttert, welches mit Spargelsauce tüchtig getränkt war; zwei andere Tiere wurden mit Spargel gefüttert. Außerdem wurde zwei weiteren Tieren je 1 ccm Spargelsauce und zwei anderen Mäusen je 1 ccm einer dünn verriebenen Spargelaufschwemmung subkutan injiziert. Keines der Versuchstiere zeigte während der Beobachtungszeit von einer Woche irgendwelche Krankheitserscheinungen. Auch die aerobe und anaerobe bakteriologische Untersuchung ergab ein negatives Resultat. Doch könnte daran gedacht werden, daß vielleicht Paratyphusbazillen abgestorben wären, ihre Gifte aber noch vorhanden seien. Es wurde daher nach Paratyphuspräzipitinen gesucht. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Verdüngungen der Spargelsauce mit Paratyphus B-Immunserum unterschichtet und beobachtet, ob eine Ringbildung eintritt. In keinem Falle konnte eine derartige Beobachtung gemacht werden. Es ist damit nachgewiesen, daß mindestens Paratyphus B niemals in der Spargelbrühe vorhanden waren.

Es sollte nun die chemische Untersuchung Aufschluß über den Gehalt der Konserven an Zinn geben. Da in der Literatur schon einige Fälle von Vergiftungserscheinungen nach dem Genusse zinnhaltiger Konserven bekannt sind, so lag die Vermutung nahe, daß auch hier sich Zinn in den Spargelkonserven finden könnte.

Die qualitative Prüfung, die zunächst vorgenommen wurde, ergab die Abwesenheit von Blei, Wismut, Arsen und Antimon und zeigte eine deutliche Zinnreaktion.

Methoden zur quantitativen Bestimmung kleiner Zinnmengen in organischer Substanz sind angegeben worden von: H. A. Weber (1), A. Hilger und L. Labaude (2), Wirthle (3), Vandevelde (4), Eckardt (5) und Lehmann (6).

Ich benutzte die Methode von K. B. Lehmann, die er bei seinen ausgedehnten Untersuchungen angewandt und erprobt hat.



Um über die hohe Genauigkeit der Methode zu orientieren, sei hier erwähnt, daß Lehmann von 2·5 mg Zinn, die er zu 10 grm Fleisch fügte, 2·4 bzw. 2·5; von 5·0 mg 4·79 bzw. 4·8 wieder fand.

Die Untersuchung wurde für die Spargel und die Spargelsauce getrennt vorgenommen. Die Spargelbrühe wurde einesteils, wie sie von den Spargeln abgegossen wurde, untersucht, also mit allen dabei vorhandenen Spargelteilchen und andererseits auch nach sorgfältiger Filtration.

50 grm Spargel wurden in einer großen tiefwandigen Porzellanschale auf dem Wasserbade längere Zeit erwärmt, um einen Teil des Wassers zu verdampfen. Nach dem Abkühlen wurde die Schale auf das Asbestdrahtnetz gestellt, ungefähr mit der vierfachen Menge Salpetersäure versetzt und verrührt. Damit der Inhalt beim Verkohlen nicht verspritzt, muß tüchtig gerührt werden, bis die Verkohlung ganz zu Ende ist, und kein explosives Aufflackern mehr stattfindet. Die Kohle wurde mit Wasser ausgezogen, und die extrahierte Kohle mit dem fünffachen Volumen einer Soda-Salpeter-Mischung in einem Tiegel gemengt und gründlich geschmolzen. Die vollkommen weiße Schmelze wurde in heißer verdünnter Salzsäure gelöst, die etwas trübe Flüssigkeit mit etwas Ammoniak übersättigt und wieder schwach mit Salzsäure angesäuert. In die erwärmte Flüssigkeit wurde Schwefelwasserstoff längere Zeit eingeleitet und 12 Stunden lang stehen gelassen. Das ausgefallene Schwefelzinn wurde abfiltriert, das Filter mit Schwefelwasserstoffwasser nachgewaschen und getrocknet. Das trockene Filter wurde mit Soda und Salpeter geschmolzen, mit Salzsäure aufgenommen, und das Zinn durch Schwefelwasserstoff zum zweiten Male gefällt, um möglichst die bei der ersten Fällung stets noch vorhandenen Kalksalze zu entfernen. Dieser Niederschlag wurde mit Salpetersäure erhitzt und dann geglüht, und das Zinn als Zinndioxyd gewogen.

Ergebnis der Analyse.

a) 1. Büchse. 50 grm Spargel ergaben 0·0111 grm SnO_2 = 0·00874 grm Sn.

b) Dieser Versuch wurde mit großen Mengen wiederholt; und zwar wurden hierzu aus der 2. Büchse möglichst solche Spargel entnommen, die der Wand der Konservenbüchse anlagen.

a) 2. Büchse. 150 grm Spargel ergaben 0·0435 grm SnO_2 = 0·03428 grm Sn.

b) 105 grm Spargelsauce nicht filtriert, nur abgegossen, gaben 0·0026 grm SnO_2 = 0·002 grm.

c) 100 grm filtrierte Spargelsauce gaben kein SnO_2.

Das Zinnoxyd wurde des öfteren im Wasserstoffstrom reduziert.



Das Ergebnis dieser Analysenzahlen veranschaulicht deutlich das auch schon von anderen Autoren gegebene Bild, daß das Zinn durch die Brühe von den Wandungen gelöst wird, mit den Spargeln eine schwer lösliche Verbindung eingeht und so aus der Brühe schwindet. Die kleine Zinnmenge, die in der Brühe unter b) gefunden wurde, ist auf Verunreinigung mit Spargelsplittern zurückzuführen, da gut filtrierte Spargelsauce kein Zinn enthält. Die Angaben Wackendorffs in der Arbeit von Ungar und Bodländer (7) decken sich in dieser Beziehung mit den meinen.

Es enthielt demnach 1 kg Spargel 290 mg Zinn. Da nun eine Büchse Spargel 150 grm Sauce und 250 grm Spargelstangen enthielt, so betrug der Zinngehalt der in Rede stehenden Konservenbüchse 67·0 mg.

Wie verhalten sich nun die hier mitgeteilten Zinnmengen zu den bisher in der Literatur bei ähnlichen Fällen beschriebenen? Zum Vergleich seien hier nur die Zahlen aufgeführt, die bei der Analyse von Spargelkonserven gefunden wurden.

Analytiker	Zinn pro kg
Ungar und Bodländer (7) . .	269 mg
Beckurts (8)	220-600 mg
Aumüller (9)	119 mg
Friedmann	290 mg

Diese Angaben in der Literatur weichen nicht so sehr von meinen Zinnbefunden ab. Was bei der Beurteilung des vorliegenden Falles als Zinnvergiftung jedoch besonders ins Gewicht fällt, das ist die Tatsache, daß der Bericht von einem bedeutenden Königsberger Arzte nach eigener Beobachtung an sich selbst und seiner Frau gegeben wurde. Es kann hier augenscheinlich nichts anderes als eine wirkliche akute Zinnvergiftung vorliegen, da Blei, „der giftigere Bruder und Begleiter des Zinns", nicht nachzuweisen war. — Sehr ähnlich verhielt sich folgender von Ungar und Bodländer (7) beschriebener Fall, der nach dem Genuß einer Zweipfundbüchse Konservenspargel, am Abend vorher, sich ereignet hat:

„Ein Ehepaar, im Alter von 32 und 31 Jahren, fühlten morgens beim Erwachen einen eigentümlich unangenehmen Geschmack, große Hitze im Munde und Rachen, brennenden Durst, Übelkeit und große Mattigkeit. Der Appetit fehlte gänzlich, die Zunge war mäßig stark belegt; gegen 9 Uhr stellte sich bei dem Mann und etwas später auch bei der Frau Diarrhöe ein, welcher heftige Kolikschmerzen vorangingen. Nach dem Genusse eines Glases warmer Milch trat bei der Frau mehrmaliges heftiges Erbrechen ein. Die kolikartigen Schmerzen im Unterleibe und der Durchfall ließen bei beiden Patienten gegen Abend nach, nachdem dieselben mehrmals 10 Tropfen Tinktura opii simpl. eingenommen hatten. Am anderen Tag war die Frau, abgesehen von



einer gewissen Abgeschlagenheit und einer noch einige Tage anhaltenden Appetitlosigkeit wieder hergestellt; bei dem Manne traten am nächsten Tage wiederum sich häufiger wiederholende Durchfälle ein, denen jedoch diesmal eigentliche Kolikanfälle nicht vorangingen. Statt dessen bestand ein, auch noch die nächsten Tage anhaltender, auf Druck und nach der Nahrungsaufnahme stärker werdender, mehr dumpfer Schmerz in der Magengegend, und stellten sich Rücken- und Gliederschmerzen ein. Vom dritten Tage an hörten auch bei diesem Patienten die Diarrhöe und die Schmerzen auf, doch bestanden bei ihm noch etwa 8 Tage lang die Erscheinungen der Dyspepsie. Die Stuhlgänge sollen bei beiden Patienten kein bemerkenswertes Aussehen gehabt, namentlich keine blutigen Beimischungen gezeigt haben; Tenesmus soll ebenfalls nicht bestanden haben."

Die chemischen Untersuchungen wurden auch hier nicht an einem Rest der Spargel, sondern an Kontrollbüchsen ausgeführt. Spricht dieser Fall für die Möglichkeit einer Zinnvergiftung durch Konserven, so konnte Bodländer andererseits durch Versuche an Tieren und Menschen trotz Verabreichung stark zinnhaltiger Konserven keine Vergiftung hervorrufen. So genoß Bodländer in drei Tagen 914 grm Spargel (247 mg Zinn) und 1213 grm Aprikosen (297 mg Zinn), zusammen 544 mg Zinn, somit pro Tag 180 mg Zinn ohne Schaden zu leiden. Es ist schwer, diese sich widersprechenden Tatsachen miteinander in Einklang zu bringen. K. B. Lehmann (6) steht der Annahme von akuten Zinnvergiftungen durch Konserven im allgemeinen skeptisch gegenüber, wenn er auch als theoretische Möglichkeit für einzelne Menschen eine idiosynkratische Empfänglichkeit gegen Zinn zugibt. Er läßt von allen ihm aus der Literatur bekannten Fällen nur einen als zweifellose Zinnvergiftung gelten, und bei diesem handelte es sich um eine Konserve in Weinsauce (Ostseedelikateßheringe; 154 mg Zinn), wodurch eine akut einsetzende, 6 Tage dauernde Verdauungsstörung hervorgerufen wurde; vgl. Günther (10). Er hält gerade hier die Zinnvergiftung für möglich, weil, wie Untersuchungen ergaben, Weinsäure wie auch Apfelsäure, im geringen Grade auch Essigsäure, lösliche Zinnsalze bilden, deren Genuß in größerer Menge bedenklich sein kann. Er meint, daß „die gewöhnlichen nicht sauren oder nicht stark sauren Fleisch- und Gemüsekonserven (worunter auch der Spargel zu begreifen ist; Anm. d. Verf.) zu einer akuten Vergiftung kaum jemals Anlaß zu geben scheinen. Wenigstens ist kein ganz sicherer Fall dieser Art trotz des enorm verbreiteten Konservengenusses bekannt. Man wird bei „akuten Zinnvergiftungen" stets an Vergiftungen durch verdorbene Konserven denken müssen und erst dann das Zinn anschuldigen dürfen, wenn jede andere Erklärung fehlt."

In dem hier beschriebenen Falle scheint mir nun wirklich eine andere Erklärung nicht vorzuliegen, und ich möchte ihn deswegen als einen Beitrag zu der Frage der akuten Zinnvergiftung hier mitgeteilt haben.



Der Fall bietet gegenüber den erwähnten in zweierlei Hinsicht Besonderheiten:

1. Die Spargel sind zweifellos als Ursache der Erkrankung aufzufassen. (Zweimaliger Genuß zu verschiedenen Zeiten und Erkrankung nur der Personen, die Spargel gegessen hatten.)

2. Zwei Büchsen hatten die Erkrankung hervorgerufen, zwei Kontrollbüchsen konnten untersucht werden.

3. Die bakteriologische Untersuchung, auch serologisch vorgenommen, ergab ein negatives Resultat.

Nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse kann an nichts anderes als Zinn gedacht werden. Allerdings bin ich mir der Mangelhaftigkeit dieser Beweisführung bewußt, ebenso wie der Tatsache, daß viele Menschen diese Menge von Zinn aufnehmen, ohne Schaden an ihrer Gesundheit zu leiden.

Ich kann den Umstand, daß eine solche Schädigung bei der großen Ausdehnung des Konservengenusses nicht häufiger vorkommt, nicht anders erklären als durch die Annahme, daß bei einigen Menschen tatsächlich eine besondere Empfindlichkeit schon gegen kleine Zinnmengen gegeben sei. So würde sich das negative Resultat der oben angeführten Bodländerschen (7) Versuche auch erklären. Einen höheren oder geringeren Grad der Empfänglichkeit bei verschiedenen Tieren (Kaninchen weniger, Katzen, Hunde mehr empfänglich) hat Bodländer (7) ebenfalls schon festgestellt.

Die ziemlich große Literatur über Zinnvergiftungen durch verschiedene Konserven ist in letzter Zeit vielfach im Zusammenhange besprochen worden. Ich nenne als umfassendere Literaturnachweise die Arbeiten von K. B. Lehmann (6), Hartwig (11), Eckardt (5) und Witte (12).



Literatur.

1. Weber, H. A., *Revue intern. des falsif.* 1892.

2. Hilge, A., u. Labaude, L., *Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel.* 1899. Bd. II.

3. Wirthle, *Chemiker-Zeitung.* 1900. Bd. XXIV.

4. Vandevelde, A. J. J., *Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel.* 1904. Bd. VII.

5. Eckardt, *Ebenda.* 1909. Bd. XVIII.

6. Lehmann, K. B., *Archiv für Hygiene.* 1902. Bd. XLV. 1907.. Bd. LXIII

7. Ungar, Dr. E., u. Bodländer, Dr. G., *Centralblatt f. allgem. Gesundheitspflege.* 1885. Erg.-Bd. I., u. *Diese Zeitschrift.* 1887. Bd. II.

8. Beckurts, *Apothekerzeitung.* 1896.

9. Aumüller, *Dissertation.* Würzburg 1897.

10. Günther, *Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel.* 1899. Bd. II.

11. Hartwig, *Dissertation.* Leipzig 1908.

12. Witte, *Zeitschrift f. öffentl. Chemie.* 1911.

[Aus dem Institut für Hygiene u. Bakteriologie der Universität Straßburg i/E.]
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth.)

Über das Verhalten der Ratte gegenüber Tuberkelbazillen von Typus humanus und Typus bovinus.

Von

Dr. **K. Aoki.**

Obgleich schon von verschiedenen Seiten das Verhalten der Ratten den Tuberkelbazillen gegenüber untersucht worden ist (R. Koch[1], Vagedes[2], englische Tuberkulose-Kommission[3]), so fehlten bisher doch systematische vergleichende Untersuchungen über das Verhalten der Ratten den beiden Typen gegenüber, dem Typus humanus und Typus bovinus.

Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Uhlenhuth habe ich solche vergleichende Untersuchung angestellt, deren Ergebnis ich hier mitteilen möchte.

Im ganzen wurden 8 Stämme von Typus humanus und 6 Stämme von Typus bovinus geprüft. 6 Stämme davon wurden uns vom Kaiserlichen Gesundheitsamt und die übrigen 8 Stämme vom Königlichen Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

1. Versuch.

Es wurden je 2 mg Bazillen von Typus humanus und von Typus bovinus je 4 Ratten intravenös in die Schwanzvenen eingespritzt; eine Methode, die zuerst Trommsdorff im Uhlenhuthschen Laboratorium ausgearbeitet und

[1] *Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1884. Bd. II.
[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVIII.
[3] Kolle u. Wassermann, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.* 2. Aufl.



für ähnliche Versuche bei Mäusen bereits angewendet hat.[1] Sämtliche Tiere sind nach etwa 3 Monaten zugrunde gegangen. Bei den Ratten, die den Typus humanus injiziert bekommen hatten, waren die Tuberkuloseerscheinungen makroskopisch sehr deutlich ausgeprägt, worin man durch Ausstrichpräparate Tuberkelbazillen leicht nachweisen konnte. Die Ratten, die die Bazillen von Typus bovinus erhalten hatten, haben bis auf eine makroskopisch keine tuberkulösen Veränderungen der Organe gezeigt, und es konnten keine Tuberkelbazillen in Ausstrichpräparaten nachgewiesen werden. Nur bei einer Ratte wurden einige Knötchen in den Lungen festgestellt, und in Ausstrichpräparaten von diesen Knötchen fanden sich auch mikroskopisch Tuberkelbazillen (vgl. Tabelle I).

Tabelle I.

Ratten	Datum der Impfung	Tuberkelbazillen	Menge der Tuberkelbazillen	Impfung	Datum des Todes	Sektionsbefund
1	6. III. 12	Typus humanus I. Stamm	2 mg	intravenös	3. VI. 12	in den Lungen mäßig viele miliare Knötchen; im Ausstrichpräparate viele Tuberkelbazillen. Die anderen Organe frei von Tuberkuloseveränderungen
2	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	3. VI. 12	desgl.
3	„	„	„	„	15. VI. 12	„
4	„	„	„	„	17. VI. 12	„
5	„	Typus bovinus I. Stamm	„	„	3. VI. 12	in den Lungen keine Knötchen; mikroskopisch keine Tuberkelbazillen nachweisbar. Die anderen Organe ebenfalls frei von Tuberkuloseveränderungen
6	„	„	„	„	5. VI. 12	desgl.
7	„	„	„	„	5. VI. 12	„
8	„	„	„	„	22. VI. 12	in den Lungen ganz wenige Knötchen zu sehen. Mikroskopisch im Ausstrichpräparate wenig Tuberkelbazillen nachweisbar

2. Versuch.

Es wurden je 1 mg Bazillen von Typus humanus und Typus bovinus je 8 Ratten intraperitoneal eingespritzt. Nach 40 Tagen waren alle Tiere durch interkurrente Krankheiten eingegangen. Bei sämtlichen Tieren, welche Bazillen von Typus humanus erhalten hatten, wurden submiliare Knötchen in den Lungen festgestellt, und Ausstrichpräparate, die von diesen Knötchen

[1] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XXXII.

angefertigt wurden, zeigten Tuberkelbazillen. Anderseits konnte bei den mit den bovinen Bazillen geimpften Tieren bei der Sektion weder makroskopisch noch mikroskopisch Tuberkulose festgestellt werden (vgl. Tabelle II).

Tabelle II.

Ratten	Datum der Impfung	Tuberkel-bazillen	Menge der Tuberkel-bazillen	Impfung	Datum des Todes	Sektionsbefund
9	1. VI. 12	Typus humanus I. Stamm (frische Kultur)	1 mg	intra-peritoneal	29. VI. 12	in den Lungen zahlreiche submiliare Knötchen, im Ausstrichpräparate viele Tuberkelbazillen. Die anderen Organe frei von Tuberkulose
10	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	27. VI. 12	desgl.
11	"	"	"	"	27. VI. 12	"
12	"	"	"	"	3. VII. 12	"
13	"	"	"	"	7. VII. 12	"
14	"	"	"	"	9. VII. 12	"
15	"	"	"	"	5. VII. 12	"
16	"	"	"	"	21. VII. 12	"
17	"	Typus bovinus I. Stamm (frische Kultur)	"	"	20. VI. 12	mikroskopisch und makroskopisch keine Tuberkulose
18	"	desgl.	"	"	20. VI. 12	desgl.
19	"	"	"	"	20. VI. 12	"
20	"	"	"	"	29. VI. 12	"
21	"	"	"	"	3. VII.12	"
22	"	"	"	"	7. VII.12	"
23	"	"	"	"	9. VII.12	"
24	"	"	"	"	gesund geblieben, getötet	"

3. Versuch.

Es wurden 3 Stämme von Typus humanus und 1 Stamm von Typus bovinus geimpft. Je 6 Ratten wurden mit je 1 mg von jedem Stamme intraperitoneal infiziert. Die Tiere lebten etwa 2 Monate. Es ergab sich, daß von den 18 Ratten, die mit Typus humanus geimpft waren, 13 typische Tuberkuloseveränderungen in den Lungen zeigten, während sie bei den anderen 5 Ratten weder makroskopisch noch mikroskopisch nachweisbar waren. Zwei Tiere waren schon innerhalb eines Monats gestorben. Bei 6 Ratten, die mit dem Typus bovinus geimpft waren, war in keinem Fall Tuberkulose nachweisbar (vgl. Tabelle III).

Tabelle III.

Ratten	Datum der Impfung	Tuberkel-bazillen	Menge der Tuberkel-bazillen	Impfung	Datum des Todes	Sektionsbefund
25	10. VII. 12	Typus humanus II. Stamm	1 mg	intra-peritoneal	24. IX. 12	zahlreiche Knötchen in den Lungen. Mikroskopisch Tuberkelbazillen in großer Zahl nachweisbar
26	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	24. IX. 12	desgl.
27	"	"	"	"	21. X. 12	Tuberkuloseveränderungen in den Lungen nicht zu sehen. Tuberkelbazillen nicht nachweisbar
28	"	"	"	"	22. X. 12	wenige Knötchen in den Lungen. Mikroskopisch viele Tuberkelbazillen zu finden.
29	"	"	"	"	25. X. 12	Lungen frei von Knötchen. Tuberkelbazillen nicht nachzuweisen
30	"	"	"	"	26. X. 12	desgl.
31	"	Typus bovinus II. Stamm	"	"	21. IX. 12	"
32	"	desgl.	"	"	23. IX. 12	"
33	"	"	"	"	25. IX. 12	"
34	"	"	"	"	30. IX. 12	"
35	"	"	"	"	25. X. 12	"
36	"	"	"	"	25. X. 12	"
37	"	Typus humanus III. Stamm	"	"	30. VII. 12	"
38	"	desgl.	"	"	6. VIII. 12	"
39	"	"	"	"	11. IX. 12	viele Knötchen in den Lungen. Tuberkelbazillen. Die anderen Organe frei von Tuberkelbazillen
40	"	"	"	"	17. IX. 12	desgl.
41	"	"	"	"	14. X. 12	"
42	"	"	"	"	17. X. 12	"
43	"	Typus humanus IV. Stamm	"	"	3. X. 12	wenige Knötchen in den Lungen. Tuberkelbazillen nachweisbar
44	"	desgl.	"	"	9. IX. 12	desgl.
45	"	"	"	"	25. IX. 12	"
46	"	"	"	"	28. IX. 12	"
47	"	"	"	"	30. IX. 12	"
48	"	"	"	"	30. IX. 12	"



4. Versuch.

Es wurden je 4 andere Stämme von Typus humanus und Typus bovinus. und zwar je 2 mg intraperitoneal an 33 Ratten verimpft. 6 Tiere davon sind in 2 bis 3 Monaten spontan eingegangen. Die übrigen wurden nach 3 bis 4 Monaten getötet. Das Resultat war folgendes: Von den 16 mit Typus humanus geimpften Ratten waren 15 deutlich tuberkulös. Ein Tier, welches schon 3 Tage nach der Infektion zugrunde gegangen war, war nicht tuberkulös; dagegen waren von den 17 mit dem Typus bovinus geimpften Tieren 8 makroskopisch und mikroskopisch frei von Tuberkulose, während die anderen 9 Ratten Tuberkulose zeigten (vgl. Tabelle IV).

Tabelle IV.

Ratten	Datum der Impfung	Tuberkel-bazillen	Menge der Tuberkel-bazillen	Impfung	Datum des Todes	Sektionsbefund
49	20 X. 12	Typus bovinus III. Stamm	2 mg	intra-peritoneal	25. XI. 12	makroskopisch u. mikroskopisch Tuberkulose nicht nachweisbar
50	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	10. I. 13	desgl.
51	„	„	„	„	19. II. 13	„
52	„	„	„	„	21. II. 13 getötet	„
53	„	„	„	„	21. II. 13	„
54	„	Typus bovinus IV. Stamm	„	„	21. II. 13 getötet	in den Lungen zahlreiche Knötchen; mikroskopisch viel Tuberkelbazillen nachzuweisen
55	„	desgl.	„	„	21. II. 13	desgl.
56	„	„	„	„	desgl.	„
57	„	„	„	„	„	„
58	„	Typus bovinus V. Stamm	„	„	21. II. 13 getötet	reichliche Knötchenbildung in den Lungen. Tuberkelbazillen zahlreich
59	„	desgl.	„	„	21. II. 13	desgl.
60	„	„	„	„	desgl.	„
61	„	„	„	„	„	„
62	„	Typus bovinus VI. Stamm	„	„	21. II. 13 getötet	„
63	„	desgl.	„	„	desgl.	keine Knötchenbildung in den Lungen und anderen Organen. Tuberkelbazillen nicht nachweisbar
64	„	„	„	„	21. II. 13	desgl.
65	„	„	„	„	desgl.	„



Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Ratten	Datum der Impfung	Tuberkel-bazillen	Menge der Tubekel-bazillen	Impfung	Datum des Todes	Sektionsbefund
66	20. X. 12	Typus humanus V. Stamm	2 mg	intraperitoneal	21. II. 13 getötet	zahlreiche Knötchen in den Lungen. Tuberkelbazillen leicht nachweisbar
67	,,	desgl.	desgl.	,,	21. II. 13	desgl.
68	,,	,,	,,	,,	desgl.	,,
69	,,	,,	,,	,,	,,	,,
70	,,	Typus humanus VI. Stamm	,,	,,	21. II. 13 getötet	,,
71	,,	desgl.	,,	,,	21. II. 13	,,
72	,,	,,	,,	,,	desgl.	,,
73	,,	,,	,,	,,	19. II. 13	,,
74	23. XI. 12	Typus humanus VII. Stamm	,,	,,	21. III. 13 getötet	zahlreiche Knötchen in den Lungen. Tuberkelbazillen reichlich vorhanden
75	desgl.	desgl.	,,	,,	21. III. 13	desgl.
76	,,	,,	,,	,,	desgl.	,,
77	,,	,,	,,	,,	,,	,,
78	,,	Typus humanus VIII. Stamm	,,	,,	27. XI. 12	makroskopisch und mikroskopisch Tuberkulose nicht nachzuweisen
79	,,	,,	,,	,,	9. I. 13	Knötchen in den Lungen. Tuberkelbazillen nachweisbar
80	,,	,,	,,	,,	21. II. 13 getötet	desgl.
81	,,	,,	,,	,,	desgl.	,,

Das Ergebnis meiner Versuche läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Es wurden im ganzen 81 Ratten teils intraperitoneal, teils intravenös geimpft, und zwar 35 Ratten mit 6 verschiedenen Stämmen von Typus bovinus und 46 Ratten mit 8 verschiedenen Stämmen von Typus humanus. Von den 35 mit Bazillen von Typus bovinus geimpften Ratten wurden 9 tuberkulös, während bei 26 Tieren die Impfung nicht anging. Von den 46 mit Bazillen von Typus humanus geimpften Ratten sind 42 tuberkulös geworden, während nur bei 4 die Impfung nicht anging.

Es erwiesen sich also in meinen Versuchen die Bazillen von Typus humanus für Ratten virulenter als die Bazillen von Typus bovinus. Es wäre allerdings noch möglich, daß die mir von den oben genannten Instituten zur Verfügung gestellten Tuberkelbazillenstämme verschiedene



Virulenz besaßen, und daß die in meinen Versuchen zutage tretenden Unterschiede darauf beruhen, daß die humanen Stämme zufällig an sich schon virulenter waren als die bovinen Stämme. Es wäre dies allerdings ein merkwürdiger Zufall. Immerhin dürften zur definitiven Entscheidung der Frage, wie sich die Ratte dem Typus humanus und Typus bovinus gegenüber verhält, noch weitere Untersuchungen mit gleichzeitiger Virulenzbestimmung der verwandten Tuberkelbazillenstämme angezeigt sein.

Bemerkenswert ist, daß sowohl bei den intraperitoneal, wie bei den intravenös geimpften Ratten die Tuberkulose sich makroskopisch nur in den Lungen in Form von miliaren und submiliaren Knötchen lokalisierte, in denen man Tuberkelbazillen leicht durch die Ausstrichpräparate nachweisen konnte. Alle anderen Organe erwiesen sich frei von makroskopisch erkennbaren Tuberkuloseveränderungen. Dieselben Befunde wurden auch von Vagedes in seiner Arbeit beschrieben. Er hatte aber bei Ratten, denen für Kaninchen hoch virulente Tuberkelbazillen verimpft worden waren, im ganzen Körper generalisierte Tuberkulose beobachtet.

[Mitteilung aus dem Öffentl. Chemischen Laboratorium Berlin NW 6.]
(Vorstand: Dr. Heinrich Zellner.)

Über die Ursachen der Hauterkrankungen im Buchdruckgewerbe.

Von

Heinrich Zellner und **Hans Wolff.**

Seit mehreren Jahren treten bei den Mitgliedern der Buchdruckerkrankenkassen häufiger Hauterkrankungen aller Art auf. Diese zeigen nicht selten das Bild mehr oder minder erheblicher Verbrennungen. Es stellte sich heraus, daß die Ursache der Erkrankungen in den Waschmitteln lag, die zum Ausspülen der Formen Verwendung finden.

Als Waschmittel werden benützt: Terpentinöl und dessen Ersatzmittel, Benzine, Laugen, Petroleum und Kienöl. Ausgedehnte Erkrankungen stellten erhebliche materielle Anforderungen an die Krankenkassen, und diese suchten Abhilfe zu schaffen. Die Berliner Ortskrankenkasse für das Buchdruckgewerbe nahm die Sache in die Hand, veranstaltete zunächst eine Enquete bei den größeren Buchdruckereibesitzern und bat gleichzeitig um Übersendung der verwendeten Waschmittel. Das gesamte Material wurde uns zur Untersuchung und Verarbeitung übergeben, da aus unserem Laboratorium bereits früher größere Arbeiten über die Giftigkeit von Benzol, Benzin und Terpentinöl herausgegangen waren.[1]

Wir sind so vorgegangen, daß wir uns zunächst mit Herrn Sanitätsrat Dr. Oestreicher-Berlin in Verbindung setzten, der Gelegenheit gehabt hat, eine sehr große Anzahl von Hauterkrankungen der Buchdrucker zu behandeln. Sein Bericht folgt am Schlusse dieser Arbeit. Dann haben wir sämtliche uns übersandte Proben, etwa 50, einer genauen chemischen

[1] *Farbenzeitung.* Jahrg. XVI. Nr. 51 u. 55.



Untersuchung unterworfen. Unser Ziel war, nicht nur herauszufinden, welche Waschmittel schädlich waren, sondern vor allem ein positives Ergebnis zu bekommen, d. h. mit möglichster Sicherheit festzustellen, welche Waschmittel angewendet werden müssen, um die Krankheiten auszuschließen oder auf das denkbar geringste Maß zu beschränken. Wir glauben, daß uns diese Aufgabe gelungen ist.

Terpentinöl und Terpentinölersatzmittel.

Aus der Enquete und unseren Untersuchungen geht hervor, daß reines Terpentinöl (über den Begriff der Reinheit werden wir uns später noch auslassen) nur selten zu Erkrankungen Veranlassung gibt. Bei denjenigen Firmen, die als Waschmittel reines Terpentinöl verwendeten, kamen Erkrankungen gar nicht oder nur vereinzelt vor. Ganz anders war das Bild bei denjenigen Firmen, die unreines Terpentinöl oder Terpentinersatzmittel benützten.

Das liegt in erster Linie daran, daß fast alle künstlichen Terpentinölersatzmittel Benzine enthalten und oft minderwertige Benzine, über deren Giftigkeit nach unseren Untersuchungen kein Zweifel möglich ist.[1] Manche dieser Ersatzmittel waren ausschließlich Benzine, und zwar Schwerbenzine, zum Teil mit sehr hochsiedenden petroleumartigen Anteilen. Nur der kleinere Teil war Leichtbenzin. Benzolkohlenwasserstoffe waren in diesen Produkten nur in geringen Mengen vorhanden.

Wir haben in unseren oben erwähnten Arbeiten nachgewiesen, daß Benzine vielfach Hauterkrankungen hervorrufen, die sich in leichten Fällen in Rötung der Haut und sehr lästigem Jucken äußern. In schwereren Fällen nehmen die erkrankten Hautstellen durchaus den Charakter einer Verbrennung an. Derartige Beobachtungen sind aus der chirurgischen Literatur reichlich bekannt. Die Benzine verhalten sich aber nicht immer gleichartig; nach unseren Untersuchungen ist die Wirkung der Leichtbenzine im allgemeinen eine energischere als die der Schwerbenzine, vorausgesetzt, daß diese frei von Benzolkohlenwasserstoffen sind, denn sonst würde auch hier deren Schädlichkeit ganz beträchtlich steigen und sogar die der Leichtbenzine übertreffen. Unter den uns übersandten Terpentinölersatzmitteln waren zufällig die Schwerbenzine frei von Benzolkohlenwasserstoffen, aber es liegt selbstverständlich immer die Gefahr vor, daß das nicht so ist. Da sich nun die uns übergebenen Terpentinölersatzmittel sämtlich als Benzine auswiesen, müssen wir von der Verwendung dieser Ersatzmittel (und selbstverständlich auch der Benzine) abraten. Dazu müßte schon, ganz abgesehen von der Feuergefährlichkeit, die außer-

[1] *Farbenzeitung.* Jahrg. XVI. Nr. 51.

ordentliche Flüchtigkeit dieser Körper führen; denn hierin liegt auch eine Gesundheitsgefahr, da, besonders bei leichtempfindlichen Individuen, die eingeatmeten Dämpfe nicht selten Vergiftungserscheinungen hervorrufen.

Ganz anders verhält sich reines Terpentinöl. Wird dieses verwendet, so sind Erkrankungen so gut wie ausgeschlossen. Aber auch hier muß verlangt werden, daß es rein, gut rektifiziert und nicht verharzt ist. Hierauf ist das größte Gewicht zu legen, denn verharztes Terpentinöl kann ganz ähnliche Erscheinungen hervorrufen wie Benzin, nämlich stärkere Rötungen, Schmerzgefühle, Bläschen und Verbrennungen. Terpentinöl muß zwischen 154 und 160° zu mindestens 70 Prozent destillieren; über 150° sollen nicht mehr als 5 Prozent übergehen. Die Bromzahl soll zwischen 210 und 230 liegen, die Säurezahl 0·4 nicht übersteigen. Fremde Öle dürfen nicht vorhanden sein und der Harzgehalt (bei 150° abgedampft) darf nicht über 0·75 Prozent betragen.

Petroleum.

Dieses wirkt nach unseren Erfahrungen und unseren physiologischen Versuchen am wenigsten von allen Waschmitteln gesundheitsschädigend. Doch auch hier muß eine gut raffinierte, reine Ware verlangt werden. Die uns zur Untersuchung vorgelegten Proben waren in bezug auf den Raffinationsgrad außerordentlich verschieden. Zur Feststellung des Raffinationsgrades und der sogenannten Säurungszahl sind wir in etwas anderer Weise verfahren als dies üblich ist. Die übliche Methode war für unsere Zwecke (Feststellung der Schädlichkeit) nicht so brauchbar.

Petroleum soll frei von Säure sein, frei von naphten- und sulphosauren Salzen. Mit konzentrierter Schwefelsäure geschüttelt, soll die Farbe erst nach 3 Minuten ebenso dunkel wie $^1/_{10}$-Normaljodlösung werden. Die Bromzahl soll 1 nicht übersteigen. Unter 150° sollen nicht mehr als 5 Prozent, bis 250° mindestens 50 Prozent und über 300° nicht mehr als 5 Prozent übergehen. Der Geruch muß schwach, die Farbe hell und klar sein. Der Raffinationsgrad wird in der Weise bestimmt, daß 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure mit 20 ccm Petroleum kurz und kräftig durchgeschüttelt, und die Zeit beobachtet wird, in der sich die unten absetzende Schwefelsäure ebenso dunkel färbt wie $^1/_{10}$-Normaljodlösung.

Kienöl.

Dieses sollte als Waschmittel ganz ausgeschaltet werden, denn es ist wesentlich schlechter als Terpentinöl oder Petroleum. Außerdem wechseln die Eigenschaften des handelsüblichen Kienöles außerordentlich, und es ist bei diesem Produkt ganz unmöglich, immer die gleiche Ware zu erhalten.



Laugen.

Diese sollten ganz von der Verwendung ausgeschaltet, oder nur dort gebraucht werden, wo ohne ihre Hilfe eine Reinigung der Apparate schwer oder gar nicht möglich ist. Denn sie wirken fast immer ungünstig auf das Hautgewebe ein. Diese Wirkung ist so bekannt, daß wir von einer näheren Charakterisierung dieser Laugen absehen können.

Die spezifischen Gewichte der Waschmittel wurden bei 15° bestimmt. die Refraktion im Butterrefraktometer von Zeiss ermittelt.

Die Bemerkung „entspricht nicht unseren Anforderungen" bei den einzelnen Analysenergebnissen, bezieht sich lediglich auf die Verwendung dieser Präparate als Waschmittel.

Für das beste Waschmittel halten wir das wegen seines höheren Preises nur selten verwendete Paraffinöl. Aber auch dieses muß gut raffiniert und hellgelb bis farblos sein. Es darf nur schwach riechen. darf keine Säure enthalten und muß mit konzentrierter Schwefelsäure erst nach 10 Minuten sich ebenso dunkel färben wie $^{1}/_{10}$-Normaljodlösung. Das spezifische Gewicht soll zwischen 0·850 und 0·875 liegen.

Als Beispiel, welche Wirkungen nicht brauchbare Waschmittel ausüben, geben wir aus der Enquete folgendes:

In der Buchdruckerei J. S. erkrankten von 12 Arbeitern 5. Die von uns untersuchten Waschmittel waren folgende:

1. Terpentinöl. Dieses Terpentinöl war mit einem benzolkohlenwasserstoffhaltigen Benzol verfälscht.

2. Petroleum. Dieses war schlecht raffiniert.

3. Fütterin (Terpentinersatz). Dieses war eine stark alkalische, etwas ätzende Flüssigkeit.

Die Wirkungen ungeeigneter Waschmittel auf die Haut haben wir bereits früher studiert und darüber eingehend berichtet.[1] Unsere damaligen Erfahrungen im Verein mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit berechtigen zu folgenden Schlüssen:

Am besten eignet sich als Waschmittel Paraffinöl, dann Petroleum und schließlich Terpentinöl. Diese müssen aber den von uns niedergelegten Anforderungen entsprechen. Alle anderen Waschmittel sind zu verwerfen.

---

[1] *Farbenzeitung.* Jahrg. XVI. Nr. 51 u. 55.



Von 37 untersuchten Proben entsprachen 32 nicht unseren Anforderungen, d. h. 87 Prozent! Die analytischen Daten geben wir weiter unten. Die Anforderungen, die wir an die Beschaffenheit der Waschmittel stellen, sind strenge. Das ist aber nötig, denn nur so ist es möglich, die Erkrankungen auf ein minimales Maß zu beschränken. Würden wir die Grenzen weiter stecken, so würde die Möglichkeit von Erkrankungen zunehmen. Deshalb haben wir es auch aus den oben genannten Gründen für richtig gehalten, die Verwendung der Benzine als Waschmittel gänzlich zu widerraten.

Es braucht wohl nicht gesagt zu werden, daß, wenn auch unseren Anforderungen in vollem Maße entsprochen wird, Erkrankungen nicht ganz ausgeschlossen werden können, denn nicht wenige Menschen haben eine so empfindliche Haut, daß schon geringe Reize Veränderungen hervorbringen. Es ist aber nicht daran zu zweifeln, daß bei strenger Durchführung der von uns gestellten Anforderungen die Ekzeme und andere Hauterkrankungen durch Waschmittel auf das denkbar geringste Maß beschränkt werden können.

Bericht des Hrn. Sanitätsrat Dr. Oestreicher, Berlin:

Im September/Oktober vorigen Jahres kam eine größere Anzahl von Druckereiarbeitern der großen Berliner Zeitungsoffizinen in meine Behandlung mit Hauterkrankungen, die alle mehr oder weniger das gleiche Symptomenbild aufwiesen. Waren die Patienten frisch erkrankt, so zeigte die Haut der Hände und Unterarme — und um diese Körperteile handelte es sich fast ausnahmslos — den Zustand einer Verbrennung ersten Grades. Die Haut war stark gerötet und gespannt, fühlte sich heiß an und begann sich in Blasen abzuheben. Bestand die Erkrankung schon länger, so konnten Abschürfungen und Rißbildungen festgestellt werden, das Bild des typischen artefiziellen Ekzems, d. h. einer Hauterkrankung, die nur durch äußere Schädigungen bei der Berufsarbeit sich entwickelt. Was war die Ursache dieser fast plötzlich in manchen Druckereien endemisch auftretenden Hautaffektion? Übereinstimmend gaben die Arbeiter an, daß seit der Einführung eines Ersatzmittels für das zum Abwaschen und Reinigen der Platten und Typen gewöhnlich gebrauchte Terpentinöl oder Petroleum die Erkrankung eingesetzt hatte. Sie bezeichneten diese als „Terpentinvergiftung“.

Schon vor einigen Jahren hatte ich eine mit denselben akuten Symptomen auftretende Krankheit in einer großen Berliner Zeitungsdruckerei beobachten können. Auch damals hatten die erkrankten Arbeiter ein



Terpentinersatzmittel für die Entstehung ihrer Beschwerden angeschuldigt. Da die Kranken arbeitsunfähig waren, und Betriebsstörungen unvermeidlich wurden, so ließ die Betriebsleitung auf meinen von ihr erbetenen Rat wieder reines Terpentinöl, wie vorher, anwenden, mit dem Erfolge, daß neue Erkrankungen nicht mehr auftraten, auch mehrere Jahre ausblieben. An diese Beobachtung erinnerte ich mich, als im Herbste vorigen Jahres die Krankheit wieder auftrat. Diesmal hatten die Arbeiter selbst das Waschmittel durch ein Laboratorium untersuchen lassen. Es konnte nach dem mir vorgelegten Untersuchungsergebnis Terpentinöl in demselben gar nicht nachgewiesen werden, es bestand vielmehr aus einem Gemisch von Schwerbenzin, Benzol und Fetten. Der Preis dieser Mischung war ein wesentlich billigerer als der des Terpentinöles.

Nach anderen Erfahrungen, die ich und auch wohl meine Fachkollegen mit der überaus schädlichen Einwirkung des Benzins auf die menschliche Haut gemacht haben, war von vornherein als sicher anzunehmen, daß dieses als Ursache der Hauterkrankungen anzusehen war. Wiederholt konnte ich Hautekzeme nach dem Gebrauch von Handschuhen, die mit Benzin gereinigt worden waren, beobachten. Auch bei dem Hantieren mit dem Holzbrandapparat, der durch Benzin in Brand gehalten wird, sah ich ähnliche Erkrankungen. Neuerdings ist es Mode geworden, die Reinigung der Hautdecke vor Operationen, ferner die Entfernung von Salben und Pflastern mit Benzin zu besorgen, auch hier konnte ich wiederholt die gleiche schädliche Einwirkung feststellen. Es blieb nur noch die Frage offen, weshalb nicht alle Arbeiter, die mit dem Terpentinersatz zu tun gehabt hatten, gleichmäßig erkrankt waren. Die Antwort ergibt sich aus der allen Beobachtern geläufigen Tatsache, daß die Haut der einzelnen Menschen sehr verschieden auf äußere Einflüsse reagiert. Es muß hierbei, wie so oft in der Medizin, die Prädisposition und die Empfindlichkeit der Menschen berücksichtigt werden. Äußere Reizmittel, die bei dem einen Menschen schädlich auf die Haut einwirken, werden von einem anderen, der unter den gleichen Bedingungen mit ihnen in Berührung kommt, anstandslos gut vertragen.

Es erübrigt noch hinzuzufügen, daß der ärztliche Rat, den die Betriebsleitung einer großen Zeitung einforderte, um den Übelständen, die sich durch das Auftreten der Hautkrankheit eingestellt hatten, zu begegnen, auch diesmal lautete: das Ersatzmittel für Terpentinöl zu beseitigen, was auch geschah. Seitdem habe ich keinen derartigen Fall mehr aus diesem Betriebe in Behandlung bekommen.



Die analytischen Resultate.

Künstliches Terpentin.

Firma C. B.

Refraktion 18
Siedebeginn . . . 125°
Bis 165° gehen . . 72 Proz. über
„ 195° . . . . 94 „ „
Bromzahl . . unter 0·3.

Mäßig schweres Schwerbenzin, völlig frei von Benzolkohlenwasserstoffen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Waschpetroleum.

Firma: C. B.

Siedebeginn . . 185°
Bis 220° gehen . 22 Proz.
„ 270° „ . 75 „ über
Bromzahl . . unter 0·4
Raffinationsgrad sofort dunkler als Jodlösung
Farbe . . . . stark gelb.

Schlecht raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: R. B.

Refraktion 8
Siedebeginn . . . . . 100°
Bis 120° gehen . . . . 40 Proz.
„ 140° „ . . . . 80 „
„ 150° „ . . . . 90 „
Bromzahl . . . . . . 0·3.

Schwereres Leichtbenzin, frei von Benzohlkohlenwasserstoffen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen

Petroleum.

Firma: R. B.

Siedebeginn . . 150°
Bis 210° gehen . 45 Proz.
„ 270° „ . 85 „ über
Bromzahl . . . 1·8
Raffinationsgrad . sofort dunkler als Jodlösung
Farbe . . . . schwach gelb.

Nicht gut raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Kienöl.

Firma: B. B.

Spezifisches Gewicht 0·880
Refraktion . . 76
Siedebeginn . . 157°
Bis 165° gehen . 58 Proz.
„ 170° „ . 84 „
„ 210° „ . 94 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . 29 „
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . 8 „ ungelöst
Bromzahl . . . 160
Kienölreaktion nach Herzfeld schwach positiv, nach Wolff stark positiv.
Handelsübliches, gutes Kienöl.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: B. B.

Siedebeginn . . . 140°
Bis 210° gehen . 45 Proz.
„ 290° „ . . 85 „ über
Bromzahl . . . . 3·6
Raffinationsgrad . . sofort schwarz.
Farbe . . . . . trübe, gelblich.

Sehr schlecht raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: D. D. und V.

Refraktion . . . . 6·5
Siedebeginn . . . 75°
Bis 105° gehen . . 58 Proz.
„ 125° „ . . 85 „
Der Rest bis etwa . 160° über
Bromzahl . . . . 0·8

Mäßig leichtes Leichtbenzin mit schwer siedenden Anteilen. Frei von Benzolkohlenwasserstoff.



Benzin.

Refraktion . . unter 0
Siedebeginn . . . . 85°
Bis 125° gehen . . 94 Proz. über
Bromzahl . . . . 0·3.

Mäßig leichtes Leichtbenzin. Völlig frei von Benzolkohlenwasserstoffen.

Beide Proben entsprechen nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: D. D. und V.

Siedebeginn . . 140°
Bis 210° gehen . 43 Proz.
„ 290° „ . 87 „ über
Bromzahl . . unter 0·3
Raffinationsgrad nach 5 Min. dunkler als Jodlösung
Farbe . . . . wasserklar.

Gut raffiniertes Petroleum.

Entspricht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: A. F. Z.

Refraktion 21
Siedebeginn . . . 80°
Siedeende . . . ca. 210°
Zwischen 80 u. 120° gehen . . . . . 24 Proz.
Zwischen 120 u. 160° gehen . . . . . 39 „
Zwischen 160 u. 200° gehen . . . . . 21 „ über
Bromzahl . . . . 0·8

Mischung von Leicht- und Schwerbenzin; frei von Benzolkohlenwasserstoffen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: A. F. Z.

Siedebeginn . ca. 140°
Bis 170° gehen . 20 Proz.
„ 200° „ . 37 „
„ 230° „ . 58 „
„ 270° „ . 82 „ über
Ende gegen . . 290°
Bromzahl . . . 1·2
Raffinationsgrad nach 4 Min. dunkler als Jodlösung
Farbe . . . . schwach gelblich.

Ziemlich gut raffiniertes Petroleum.

Entspricht unseren Anforderungen.

Benzin.

Firma: F. A. G. u. S. A. G.

Refraktion . unter — 5
Siedebeginn . . . . 60°
Bis 100° gehen . . 90 Proz. über
Bromzahl . . . . . 0·6

Das Produkt ist ein Leichtbenzin.

Terpentinersatz.

Spezifisches Gewicht . 0·770
Refraktion 15
Siedebeginn . . . . 90°
Siedeende . . . . 250°
Zwischen 90 u. 130° gehen . . . . . 56 Proz.
Zwischen 130 u. 160° gehen . . . . . 24 „
Zwischen 160 u. 200° gehen . . . . . . 6 „ über
In konz. Schwefelsäure sind 3 „
„ rauch. „ „ 7 „ lösl.
Bromzahl . . . . . 0·5.

Das Produkt ist ein benzolkohlenwasserstoffarmes Benzin und zwar ein Gemisch von Leichtbenzin, Schwerbenzin u. petroleumartigem Mineralöl.

Beide Proben entsprechen nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: F. A. G. & S., A.-G.

Siedebeginn . . . . 200°
Bis 220° gehen . . 23 Proz.
„ 260° „ . . 74 „
„ 300° „ . . 96 „ über.
Bromzahl . . . . 0·5
Raffinationsgrad . . nach 12 Min.
Farbe . . . . . . schwach gelb.

Gut raffiniertes Petroleum.

Entspricht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: H. & Co.

Spezifisches Gewicht .	0·780
Refraktion	20
Siedebeginn	135°
Bis 165° gehen . .	60 Proz.
„ 200° „ . . .	96 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben	97 „
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben	94 „ ungel.
Bromzahl	0·8.

Gut gereinigtes, benzolfreies Schwerbenzin.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Reines amerikanisches Terpentinöl.

Firma: H. & Co.

Spezifisches Gewicht .	0·870
Refraktion	71
Siedebeginn	158°
Bis 160° gehen . .	60 Proz.
„ 165° „ . . .	93 „ über
Bromzahl	207
Mit konz. u. rauchender Schwefelsäure bleiben	70 „ ungel.
Refraktion . .	über 105

Reines, aber schon verharztes Terpentinöl.

Entspricht der Verharzung wegen nicht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: S. H.

Refraktion	9
Siedebeginn . . ca.	95°
Bis 110° gehen . .	18 Proz.
„ 130° „ . . .	60 „
„ 150° „ . . .	87 „ über
Siedeende	190°

Schwerbenzin mit leichter siedenden Anteilen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Naphta zum Reinigen der Walzenformen.

Firma: O. v. H.

Refraktion	18
Spezifisches Gewicht .	0·779
Siedebeginn . .	ca. 105°
Bis 120° gehen . . .	24 Proz.
„ 150° „ . . .	67 „
„ 200° „ . . .	80 „ über
Siedeende über . . .	250°
Bromzahl	0·9

Schwerbenzin mit petroleumartigen Anteilen.

Petroleum.

Farbe . . .	trübe, gelblich
Raffinationsgrad	sofort dunkler als $^1/_{10}$-Normaljodlös.

Schlecht raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Künstliches Terpentinöl.

Firma: E. S. M. & S.

Spezifisches Gewicht .	0·763
Refraktion	8
Siedebeginn . . .	ca. 100°
Bis 110° gehen . . .	17 Proz.
„ 130° „ . . .	57 „
„ 150° „ . . .	87 „
Der Rest geht bis etwa	180° über
Bromzahl	0·8.

Mäßig schweres Schwerbenzin; entspricht nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: E. S. M. & S.

Siedebeginn	140°
Bis 220° gehen . . .	50 Proz.
„ 280° „ . . .	83 „ über
Bromzahl	0·7
Raffinationsgrad	nach 7 Min.
Farbe	schwach gelb.

Gut raffiniertes Petroleum.

Entspricht unseren Anforderungen.



Petroleum.

Firma: N. B. & V.

Siedebeginn . . . . 150°
Bis 210° gehen . . 42 Proz.
„ 290° „ . . . 87 „ über
Bromzahl . . . . . 1·8
Raffinationsgrad . . sofort
Farbe . . . . . . tiefgelb.

Schlecht raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Benzin.

Firma: N. B. & V.

Refraktion . unter — 5
Siedebeginn . . . . 65°
Bis 100° gehen . . 45 Proz.
Der Rest bis etwa . 135° über
Bromzahl . . . . 0·9.

Leichtbenzin mit schwerer siedenden Anteilen. Frei von Benzolkohlenwasserstoffen.

Kysperin.

Auf der Flasche als Kysperin, auf dem Fragebogen als Terpentin bezeichnet.

Spezifisches Gewicht . 0·779
Refraktion 19
Siedebeginn . . . . 135°
Bis 165° gehen . . 67 Proz.
„ 195° „ . . . 95 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . . 97 „
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . . 93 „ ungel.
Bromzahl . . . . . 1·2

Schwerbenzin, fast frei von Benzolkohlenwasserstoffen.

Entsprechen nicht unseren Anforderungen.

Kysperin.

Firma: R.

Spezifisches Gewicht . 0·780
Refraktion 19
Siedebeginn . . . . 135°
Bis 165° gehen . . 60 Proz.
„ 200° „ . . . 93 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . . 97 Proz.
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . . 94 „ ungel.

Gutes Schwerbenzin, fast frei von Benzolkohlenwasserstoff.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: L. S.

Refraktion 18
Bromzahl . . . . 1·8

Die Probe reicht zu weiteren Untersuchungen nicht aus.

Benzin, fast frei von Benzinkohlenwasserstoffen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Terpentin.

Firma: J. S.

Spezifisches Gewicht . 0·861
Refraktion 67
Siedebeginn . . . . 156°
Bis 160° gehen . . . 27 Proz.
„ 165° „ . . . 61 „
„ 170° „ . . . 71 „
„ 200° „ . . . 84 „
Also über 200° gehen noch . . . . . 16 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . . 48 „
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . . 26 „ ungel.
Die Refraktion der ungelösten Anteile . 60
Bromzahl 164

Gemisch von Terpentinöl und Benzin. Die Menge des Benzins beträgt ca. 35 bis 40 Proz.

Entspricht als verschnittenes Terpentinöl nicht unseren Anforderungen.

Petroleum.

Firma: J. S.

Siedebeginn. . . . 145°
Bis 220° gehen . . 50 Proz.



Bis 260° gehen . . 80 Proz.
„ 300° „ . . 93 „ über
Raffinationsgrad sofort dunkler als $^1/_{10}$-Normaljodlös.
Farbe . . . . . stark gelb.

Schlecht raffiniertes Petroleum.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Firma: J. S.

Vorher benutzt, dann Muster wie von der Firma gesandt, jetzt wieder wie oben.

Spezifisches Gewicht . 0·870
Refraktion . . . . 70·5
Siedebeginn . . . . 155°
Bis 165° geben . . 88 Proz.
„ 170° „ . . . 92 „
„ 210° „ . . . 97 „ über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . 30 „
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . 10 „ ungel.
Deren Refraktion . . 76 ist
Bromzahl 197
Kienölreaktion . . . negativ.

Terpentinöl, verschnitten mit Benzin und Benzolkohlenwasserstoff.

Die Benzolkohlenwasserstoffe brauchen nicht absichtlich hinzugesetzt sein, sondern können möglicherweise als natürliche Bestandteile des Benzins in das Präparat gelangt sein. Benzin und Kohlenwasserstoffe betragen etwa 20 bis 25 Proz.

Entspricht als verschnittenes Terpentinöl nicht unseren Anforderungen.

Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . . 95 Proz. ungel.
Bromzahl . . . . 0·3

Benzolfreies Benzin, das man als Gemisch von Schwer- und Leichtbenzin bezeichnen kann.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Künstliches Terpentin.

Firma: D. T.

Spezifisches Gewicht . 0·783
Siedebeginn . . . . 105°
Bis 125° gehen . . 30 Proz.
„ 145° „ . . . 50 „
„ 200° „ . . . 73 „ über
Siedeende . . . etwa 300°
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . . 99 Proz.
Mit rauch. Schwefelsäure bleiben . . . . . 93 „ ungel.

Schwerbenzin mit geringen Mengen Benzolkohlenwasserstoffen und erheblichen Mengen petroleumähnlicher Anteile.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Waschpetroleum.

Siedebeginn . . . . 190°
Bis 220° gehen . . 20 Proz.
„ 260° „ . . . 80 „
„ 300° „ . . . 97 „ über
Farbe . . . . . . schmutzig gelb
Raffinationsgrad . . sofort dunkler als Jodlösung.

Schlecht raffiniertes Petroleum; entspricht nicht unseren Anforderungen.

Künstliches Terpentin.

Firma: Buchdruckerei „St.“

Spezifisches Gewicht . 0·758
Refraktion 5
Siedebeginn 95
Bis 125° gehen . . 66 Proz.
„ 155° „ . . . 93 „
Der Rest bis etwa . 196° über
Mit konz. Schwefelsäure bleiben . . . . . 97 Proz.

Terpentin Ia.

Firma: U. & Co.

Spezifisches Gewicht . 0·896
Refraktion 70
Siedebeginn . . . . 157°
Bis 160° gehen . . 67 Proz.
„ 165° „ . . . 97 „ über
Kienölprobe . . . . negativ
In konz. u. rauch. Schwefelsäure mehr als . 98 Proz. lösl.



Das Produkt ist reines Terpentinöl.
Entspricht unseren Anforderungen.

Salonöl.

Firma: U. & Co.

Siedebeginn	140^0
Bis 220^0 gehen . .	70 Proz.
„ 270^0 „ . . .	99 „ über
Raffinationsgrad . .	nach $1^1/_2$ Min. fast
Farbe	wasserhell.

Nach gewöhnlicher Methode gut raffiniert, im Sinne unserer Methode mäßig gut raffiniert.

Entspricht der letzten Eigenschaft wegen nicht ganz unseren Anforderungen.

Künstliches Terpentinöl.

Firma: U.-Buchdruckerei.

Refraktion	18
Bromzahl	0·3
Siedebeginn	110^0
Bis 130^0 gehen . .	15 Proz.
„ 150^0 „ . . .	45 „
„ 170^0 „ . . .	75 „
„ 190^0 „ . . .	95 „ über
Bromzahl	0·3

Benzolfreies Schwerbenzin.
Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Terpentinersatz.

Firma: Buchdruckerei P. S. & Co.

Refraktion	7·5
Siedebeginn	95^0
Bis 115^0 gehen . .	30 Proz.
„ 125^0 „ . . .	50 „
„ 155^0 „ . . .	90 „ über
Siedeende . . .	ca. 175^0
Bromzahl	0·4

Benzin als Mischung von Leicht- und Schwerbenzin zu bezeichnen.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.

Benzin.

Firma: Buchdruckerei W.

Siedebeginn	90^0
Bis 110^0 gehen . .	30 Proz.
„ 130^0 „ . . .	85 „
„ 150^0 „ . . .	95 „ über
Refraktion	1
Bromzahl	0·6

Mäßig schweres Schwerbenzin.

Entspricht nicht unseren Anforderungen.



[Aus dem staatlich-hygienischen Institut der freien und Hansestadt Hamburg.]
(Direktor: Prof. Dr. Dunbar. Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Kister.)

Weitere experimentelle Untersuchungen über Luftozonisierung.

Von

Dr. **L. Schwarz** und Dr. **G. Münchmeyer.**

Seit den ersten Mitteilungen über Luftozonisierung[1] aus unserem Institut sind eine Reihe von Arbeiten[2] über diese Fragen erschienen, die größtenteils die damals festgestellten Resultate bestätigten, insbesondere aber auch eingehende Untersuchungen über die physiologischen Einwirkungen des Ozons behandelten. Auch unser Institut hat sich weiterhin fortlaufend mit einschlägigen Versuchen über Luftozonisierung befaßt, deren Ergebnis wir hier mitteilen möchten.

Wir wiederholten unter quantitativen Versuchsbedingungen die von A. Erlandsen und L. Schwarz ausgeführten Untersuchungen über die Einwirkung von Ozon auf Schwefelwasserstoff und Ammoniak unter Berücksichtigung der von Kisskalt angegebenen Versuchstechnik, wir prüften unter Anwendung chemischer Nachweise quantitativ die Einwirkung von Ozon auf Skatol und Indol, was von A. Erlandsen und L. Schwarz, sowie von Kisskalt nur grobsinnlich bestimmt war; wir zogen neu in den Kreis unserer Untersuchungen die Beeinflussung von Kohlenoxyd, Mer-

---

[1] L. Schwarz, *Gesundheits-Ingenieur.* 1910. — A. Erlandsen u. L. Schwarz, *Diese Zeitschrift.* 1910. Bd. LXVII. 1910. S. 391.

[2] Kisskalt, *Diese Zeitschrift.* 1912. Bd. LXXI. S. 273. — Konrich, *Ebenda.* 1913. Bd. LXXIII. S. 443. — Schneckenberg, *Gesundheits-Ingenieur.* 1912. — Hill u. Flack. *Proc. of the Royal Soc. of London. B.* 1912. Bd. LXXXIV.

kaptan, schwefliger Säure und befaßten uns schließlich mit dem Ozonnachweis sowie einigen sonstigen Untersuchungen.

Um der Praxis nach Möglichkeit zu entsprechen, haben wir die Konzentrationen unserer Versuchsstoffe im allgemeinen so niedrig gewählt, wie es die Empfindlichkeit des quantitativen Nachweises zuließ, immerhin aber meist noch konzentrierter, als sie selbst in stark verunreinigter Luft vorkommen. Die Versuche wurden sämtlich bei Zimmertemperatur, also bei etwa 18 bis 22° C ausgeführt.

Für die Arbeitsmethodik ergaben sich in der Hauptsache zwei verschiedene Verfahren, je nachdem die zur Untersuchung gelangenden Substanzen bei gewöhnlicher Temperatur gasförmig, bzw. leicht vergasbar oder ob sie in den für die Untersuchung geeigneten Mengen nicht ohne weiteres in Gasform zu bringen waren. Bestimmte Mengen der gasförmigen Agenzien wurden in größeren Behältern der Einwirkung des Ozons überlassen und nach verschiedenen Zeiten wieder untersucht. Über die von Natur festen Riechstoffe wurde Luft geleitet, und die so mit geringen Mengen der betreffenden Substanz beladene Luft zusammen mit Ozon in langsamen Strome durch einige Reaktionsgefäße geleitet und festgestellt, ob der Riechstoff erhalten blieb oder zerstört wurde.

Die bei den Versuchen mit gasförmigen Substanzen benutzten gläsernen Versuchszylinder von rund 90 cm Höhe und 15 cm Durchmesser hatten dementsprechend 15 bis 16 Liter Inhalt. Durch den Tubus der abnehmbaren Deckel war mittels Gummistopfens ein kurzes und ein langes bis auf den Boden des Gefäßes reichendes Glasrohr eingeführt. Der Gummistopfen wurde von der unteren Seite mit Siegellack verdeckt, der Deckel mit Glaskitt auf den Zylinder aufgeklebt. Zur völligen Austrocknung der Kittmasse wurde dann vor Ingebrauchnahme mehrere Tage gewartet, und noch längere Zeit Luft durch die Zylinder hindurchgesaugt.

In einem dieser Zylinder wurde das betreffende Gas dem Einfluß des Ozons, in dem anderen zur Kontrolle dem Einfluß der Luft ausgesetzt. Für gute Durchmischung der Gase in den Flaschen wurde durch oftmaliges kräftiges Schütteln während des Versuches gesorgt. Nach einer gewissen Einwirkungszeit wurden aus beiden Zylindern Proben entnommen, und die Menge des noch vorhandenen betreffenden Gases festgestellt. Um das bei den Bestimmungen der betreffenden Gase störend wirkende Ozon auszuschalten, wurden mit gutem Erfolg die von Kisskalt vorgeschlagenen, mit Holzstückchen gefüllten Glasröhren (etwa 25 cm lang und 2 cm weit) benutzt, die vor der Probeentnahme an dem Versuchszylinder wie auch an dem Kontrollzylinder eingeschaltet wurden.

Bei einigen Versuchen erwies es sich als zweckmäßig, beide Zylinder mit der gleichen Ozonmenge, den einen außerdem mit dem betreffenden luftverschlechternden Agens zu beschicken und nachher die in den Zylindern verbleibende Ozonmenge zu bestimmen.



Ozon-Schwefelwasserstoff-Versuche.

Wir benutzten bei diesen Versuchen, was wir besonders hervorheben wollen, Ozon verschiedener Provenienz. Zuerst Ozon von einem kleinen Apparat einer ausländischen bekannten Firma, deren Apparat wir in unserm Versuchsraum aufstellten, und nach mehrstündiger Ozonentwicklung einerseits die Ozonkonzentration des Raumes bestimmten, andererseits durch längeres Durchspülen der Raumluft durch die Versuchszylinder diese mit Ozon von der gemessenen Konzentration anfüllten.

Bei späteren Versuchen entwickelten wir das Ozon auf chemischem Wege aus Ammonpersulfat und Salpetersäure[1]. Das durch Natronlauge von Stickoxyden möglichst befreite Ozon wurde in einer 200 ccm fassenden Hempelschen Bürette über Quecksilber oder Wasser[2] aufgefangen, und nach Bestimmung der Konzentration (Durchleiten einer aliquoten Menge des Ozons durch neutrale n/10 Jodkaliumlösung und Titration mit Thiosulfat) die zum Versuch notwendige Menge Ozon in den Versuchszylinder übergefüllt. In anologer Weise benutzten wir stickoxydfreies aus Sauerstoff mit dem bekannten Laboratoriumsapparat von Siemens & Halske hergestelltes Ozon. Dann drückten wir unter den nötigen Kautelen in beide Zylinder gleiche Mengen schwefelwasserstoffhaltige Luft unter Benutzung von Quecksilber ein und spülten mit 100 ccm Luft nach. Den Schwefelwasserstoff gewannen wir aus reinem Natriumsulfit und verdünnten diesen dann in geeigneter Weise mit Luft. Nach einer bestimmten Einwirkungszeit, in deren Verlauf wir, wie schon erwähnt, die beiden Versuchszylinder recht oft schüttelten, wurde die Bestimmung des noch vorhandenen Schwefelwasserstoffes vorgenommen. Wir benutzten hierbei ein kolorimetrisches Verfahren, das bei ebenso hoher Empfindlichkeit, wie die von Kisskalt nach K. B. Lehmann[3] angewandte Bleipapiermethode in quantitativer Beziehung dieser vielleicht überlegen ist.

Die Bestimmungen wurden in der Weise ausgeführt, daß an das bis zum Boden der Versuchszylinder reichende Glasrohr Glas auf Glas[4] die Kisskaltschen Röhren mit Holzstückchen und daran mit möglichst kurzem

[1] Malaquin, Chem.-Techn. Repert. *Chemiker-Zeitung.* 1911. Bd. XXXV. S. 337.

[2] Ozon ist im Wasser wenig löslich, etwa 1·5 bis 10 mg pro Liter bei Temperaturen von 28—2° C, außerdem abhängig von der Beschaffenheit des Wassers. (Moufang, *Wochenschrift für Brauereien.* 1911. Bd. XXVIII. Nr. 38.) — Gegenteilige Angaben von Dr. Hugo Kühl (*Technisches Gemeindeblatt.* 1912. Nr. 15. S. 227), Ozon sei etwa 15 mal leichter löslich in Wasser als Sauerstoff, beruhen auf Irrtum.

[3] *Archiv f. Hygiene.* 1897. Bd. XXX. S. 262.

[4] Zum Abdichten benutzten wir nach Kisskalt Leukoplast, das wir mit Paraffin durchtränkten.

Kautschukschlauch je eine Bleinitrat (80 bis 90 ccm ausgekochtes destilliertes Wasser und 2 ccm 1 prozentiger Bleinitratlösung) enthaltende Waschflasche angeschlossen wurde; die Zuleitungsrohre der Waschflaschen waren zur Bildung möglichst kleiner Gasblasen und entsprechend leichterer Absorption zur Kapillare ausgezogen. Nachdem im langsamen Strome (etwa 1 Liter in 15 Minuten) je nach der H_2S-Konzentration ein bis mehrere Liter Luft aus den Flaschen durch die Absorptionsflüssigkeit hindurch gesaugt waren, wurden diese auf 100 ccm aufgefüllt und der Schwefelwasserstoff kolorimentrisch bestimmt mit Hilfe von Vergleichslösungen, die in 100 ccm 10 ccm Schwefelwasserstoffwasser und 1 bis 6 ccm einer Bleinitratlösung, von der 1 ccm = 0·06 mg Pb, also 0·01 mg H_2S entspricht, enthielten. Die Ergebnisse der in dieser Weise angestellten Ozonschwefelwasserstoffversuche sind in folgender Tabelle I zusammengestellt.

Wie aus der Tabelle I hervorgeht, vermochte das auf elektrischem Wege mittels des ausländischen Apparates hergestellte Ozon in 1 bis 2 Stunden selbst bei Sonnenlicht keine nennenswerte Einwirkung auf Schwefelwasserstoff auszuüben; daß tatsächlich in dieser Zeit Ozon neben Schwefelwasserstoff in dem Versuchszylinder vorhanden gewesen ist, wird durch die noch nach Schluß des Versuches im Zylinder statthabende positive Ozonreaktion bewiesen. Bei ziemlich langdauernder Einwirkung des Ozons (Vers. 3 = 18 bis 19 St.) wird der Schwefelwasserstoff allerdings zerstört. Im Gegensatz dazu tritt das chemisch hergestellte Ozon bei Tageslicht innerhalb einer Stunde schon vollständig mit dem Schwefelwasserstoff in Reaktion, und selbst bei absoluter Dunkelheit findet die Oxydation statt. Die durch Zumischung des in Natronlauge gewaschenen Ozons hinzugekommene geringe Menge Feuchtigkeit dürfte wegen der starken Verdünnung in den Versuchszylindern irrelevant sein, zumal auch das Ozon des bekannten Siemens & Halskeschen Laboratoriumsapparates, wie aus Nr. 8 der Tabelle I hervorgeht, Schwefelwasserstoff in kurzer Zeit beseitigte. Diese höchst eigenartigen Ergebnisse (Nr. 1 und 2 d. Tab.), auf die wir übrigens weiter unten noch zurückkommen werden, würden wir gern durch weitere Untersuchungen noch gestützt haben, wurden aber leider durch vollständiges Versagen des betreffenden Apparates daran gehindert. Als der Apparat neu instandgesetzt wieder bei uns eintraf, lieferte er Ozon, das in seiner Wirkung auf Schwefelwasserstoff dem chemisch hergestellten um nichts nachstand.

In allen diesen Versuchen, die nebeneinander unter vollkommen gleichen Umständen ausgeführt wurden, ist, wie aus der letzten Rubrik der Tabelle II hervorgeht, daß Ozon vollständig mit Schwefelwasserstoff in Reaktion getreten; in beiden Versuchen 2 ist der Schwefelwasserstoff bis auf ganz minimale Mengen zerstört, während in 1 das vorhandene Ozon zur gänz-

Tabelle I. Ozon-Schwefelwasserstoffversuche.

Nr.	Zeit des Versuches	Lichtverhältnisse	Art des verwendeten Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden		Einwirkungszeit	Es wurden abgesaugt		Schwefelwasserstoffgehalt pro Liter		Ozonreaktion im Versuchszylinder nach Schluß des Versuchs
				Ozons	Schwefelwasserstoffs ca.		in Zeit	Liter	Versuch mit Ozon	Versuch ohne Ozon	
1	21. V. 12	zerstreutes Tageslicht	elektrisches Ozon. Ausländischer Apparat	0·88 mg	5 ccm (1 : 20 mit Luft verdünnt)	1 Std. 40 Min.	30 Min.	2·0	0·010 mg	0·012 mg	+
2	22. V. „	hell, teils Sonnenschein	desgl.	0·71 „	desgl.	1 „ 40 „	—	2·5	0·010 „	0·011 „	+
3	22.–23. V. „	zerstreutes Tageslicht bzw. Nacht	desgl.	0·75 „	„	18 „ 30 „	30 Min.	2·0	nicht nachweisbar weniger als 0·0013 mg	0·011 „	
4	27. VIII. „	zerstreutes Tageslicht	chemisch hergestelltes Ozon	—	7 ccm (1 : 20 mit Luft verdünnt)	4 „	—	2·0	weniger als 0·0025 mg	0·013 „	schwach +
5	30. VIII. „	desgl.	desgl.	ca. 2·1 „	desgl.	1 „	—	2·0	0·005 mg	0·030 „	—
6	26.–27. VIII. „	absolute Dunkelheit	„	„ 2 „	5 ccm (1 : 20 mit Luft verdünnt)	19 „	—	2·0	nicht nachweisbar	0·008 „	
7	30. VIII. „	desgl.	„	1·9 „	desgl.	2 „ 30 „	—	2·0	weniger als 0·0025 mg	0·020 „	
8	3. V. 13	zerstreutes Tageslicht	elektrischer Ozonapparat von Siemens & Halske	2·4 „	8 ccm (1 : 10 mit Luft verdünnt)	1 „ 20 „	30 Min.	1·0	nicht nachweisbar	0·024 „	—

Tabelle II. **Ozon-Schwefelwasserstoffversuche.**

Nr.	Zeit des Versuches	Art des verwendeten Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden Schwefelwasserstoffs	Einwirkungszeit	Bei der Best. abgesaugt Liter	Schwefelwasserstoffgehalt pro Liter	Ozonreaktion im Versuchszylinder nach Schluß des Versuches	Bemerkungen
1	18. X. 12	elektrisch hergestelltes Ozon mit ausländischem Apparat	0·50 mg	10 ccm (1 : 10 mit Luft verdünnt)	1 Std. 30 Min.	1·0	0·037 mg	—	
1a	18. X. „	chemisch hergestelltes Ozon	0·50 „ ?	desgl.	1 „ 30 „	1·0	0·051 „	—	
2	19. X „	elektrisch hergestelltes Ozon mit ausländischem Apparat	0·65 „	6 ccm (6 : 100 mit Luft verdünnt)	1 „ 30 „	1·0	0·0025 „	—	
2a	19. X. „	chemisch hergestelltes Ozon	0·62 „	desgl.	1 „ 30 „	1·0	0·0015 „	—	

Tabelle III. **Ozon-Ammoniakversuche.**

Nr.	Zeit des Versuches	Lichtverhältnisse	Menge des zur Wirkung kommenden Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden Ammoniaks	Einwirkungszeit	Es wurden abgesaugt Liter	Ammoniakgehalt pro Liter: Versuch mit Ozon	Ammoniakgehalt pro Liter: Versuch ohne Ozon	Ozonreaktion im Versuchszylinder nach Schluß des Versuches	Bemerkungen
1	**2. IX. 12**	**zerstreutes Tageslicht**	**1·7 mg**	**5 ccm 1 : 10 = 0·22 mg**	**1 Std.**	**1·5**	**0·022 mg**	**0·022 mg**	**stark +**	
2	**3. IX. „**	**zerstreutes Tageslicht; helles Wetter**	**3·2 „**	**10 ccm 1 : 10 = 0·50 mg**	**4 „ 30 Min.**	**1·5**	**0·021 „**	**0·021 „**		
3	**9. IX. „**	**zerstreutes Tageslicht bzw. Nacht**	**2·0 „**	**10 ccm 1 : 10 = 0·60 mg**	**18 „**	**2·0**	**0·015 „**	**0·015 „**	**stark +**	
4	**6. IX. „**	**zerstreutes Tageslicht**	**1·6 „**	**10 ccm 1 : 10**	**2 „**	**2·0**	**0·012 „**	**0·012 „**	**stark +**	**Die Luft in den Zylindern ist durch künstliche Anreicherung annähernd mit Feuchtigk. gesättigt.**

lichen Beseitigung der in diesem Falle etwas größeren Schwefelwasserstoffmengen nicht hinreichte. Daß in Ia etwas mehr Schwefelwasserstoff zurückgeblieben ist, ist jedenfalls darauf zurückzuführen, daß beim Einführen des Ozons in den Versuchszylinder Verluste eingetreten sind.

Ozon-Ammoniakversuche.

Die Angabe Konrichs[1], daß Kisskalt eine Einwirkung von Ozon auf Ammoniak nachgewiesen habe, beruht, wie uns der Autor freundlichst mitteilte, auf einem Mißverständnis. Die von A. Erlandsen und L. Schwarz in dieser Richtung angestellten Versuche haben dargetan, daß Ammoniak durch Ozon unter den der Praxis entsprechenden Verhältnissen nicht zerstört wird. Das gleiche Ergebnis haben wir bei der Wiederholung dieser Versuche unter quantitativer Versuchsanordnung gehabt.

Die Versuchstechnik war die gleiche, wie bei den Ozonschwefelwasserstoffversuchen. Das Ammoniak wurde durch Erwärmen einer 25 prozentigen wässerigen Ammoniaklösung mit Natronlauge entwickelt; der starke Wassergehalt des resultierenden Ammoniakgases war bei der nachherigen großen Verdünnung unwesentlich.

Die Ammoniakbestimmung wurde nach Absorption durch verdünnte Schwefelsäure (5 ^{ccm} verd. H_2SO_4 und 75 ^{ccm} Wasser) und Neutralisation mit Natronlauge quantitativ nach Nessler ausgeführt. Die Zerstörung des Ozons wurde wieder nach Kisskalt mittels Holz bewirkt, was Ammoniak vielleicht etwas absorbiert, aber da auch im Kontrollversuch Holz eingeschaltet war, ist in beiden Fällen der Fehler gleich. Das Ozon war bei allen Versuchen chemisch hergestellt (vgl. Tabelle III).

Wie ersichtlich, ist selbst nach 18 stündiger Einwirkungszeit neben einer reichlichen Menge Ozon die Ammoniakkonzentration im Ozonversuch genau die gleiche, wie im Kontrollversuch; selbst bei annähernd mit Feuchtigkeit gesättigter Luft, also erhöhter Ozoneinwirkung, sind die beiden Gase nicht miteinander in Reaktion zu bringen.

Ozon-Kohlenoxydversuche.

Nicht uninteressant erschien uns der praktischen Bedeutung wegen eine Orientierung darüber, ob Ozon in der Luft Kohlenoxyd zu Kohlensäure oxydieren und mithin unschädlich machen kann, was im Hinblick auf die leichte Oxydierbarkeit dieses Gases a priori nicht ausgeschlossen war. Wie schon oben erwähnt, hat Clausmann[2] Untersuchungen über

[1] loc. cit. S. 447.

[2] Clausmann, *Compt. rend. de l'Acad. des sciences.* Bd. CL. S. 1332.



Einwirkung von Ozon auf CO angestellt, die aber der großen Konzentrationen und der langen Reaktionsdauer wegen auf die Ozonlüftung nicht ohne weiteres übertragen werden können. Zu unseren Versuchen wurde anfangs Kohlenoxyd in einer etwa 5 Liter fassenden Flasche der Einwirkung von Ozon ausgesetzt, und nachher die etwa in der Flasche gebildete Kohlensäure nach Pettenkofer bestimmt. Tatsächlich war in mehreren Versuchen der Kohlensäuregehalt im Ozonversuch etwas höher als im Kontrollversuch, aber die Ergebnisse waren nicht einwandfrei, weil das Ozon vielleicht erst unter dem Einfluß des Wassers beim Ausschütteln der Flaschen mit Barytlauge wirkte. Deshalb wurden weitere Versuche in der gleichen Weise wie die Schwefelwasserstoff- und Ammoniakversuche angesetzt. Kohlenoxyd wurde aus Ameisensäure und konz. Schwefelsäure entwickelt, durch konz. Kalilauge gewaschen und in geeigneten Mengen den Versuchszylindern zugesetzt. Zur Bestimmung des Kohlenoxyds befreiten wir die aus den Zylindern entnommenen Luftproben wieder durch Holz von Ozon (Kohlenoxyd wurde durch Holz nicht absorbiert oder verändert) und leiteten sie durch Waschflaschen mit 80 ^{ccm} 0·20 prozentiger Ammonium-Palladium-Chlorürlösung. Die in den Lösungen infolge Reduktion des Palladium-Chlorürs hervorgerufenen Schwärzungen dienten uns als Indikator für die noch vorhandenen Kohlenoxydkonzentrationen in den betreffenden Zylindern. Wie vorher festgestellt wurde, scheidet Laboratoriumsluft in den hier in Betracht kommenden Mengen nur sehr geringe Spuren Palladiummetall aus der CO-Absorptionslösung ab (wohl auf das in der Laboratoriumsluft befindliche CO zurückzuführen), was indessen das Versuchs- und Kontrollresultat in gleicher Weise beeinflußt und somit bedeutungslos ist (vgl. Tabelle IV).

Unter gewöhnlichen Verhältnissen ist also selbst nach 23 Stunden noch keine nachweisbare Reaktion zwischen Ozon und Kohlenoxyd eingetreten, bei 90 Prozent relativer Feuchtigkeit (Nr. 3) ist nach 3 Stunden der Kohlenoxydgehalt ebenfalls so gut wie gar nicht vermindert; (der minimale Unterschied liegt innerhalb der Versuchsfehlergrenzen). Die Konzentration des verwendeten Kohlenoxyds ist nur in einem Falle, Nr. 3, bestimmt worden, doch wird man nicht fehl gehen, wenn man für die beiden anderen Versuche, bei denen nur an der Intensität der Palladium-Chlorürreaktion eine genügende Konzentration festgestellt wurde, ungefähr die entsprechenden Zahlen annimmt.

Ein weiterer Versuch wurde noch in der Weise ausgeführt, daß das Verhalten des Ozons zum Kohlenoxyd an den nach der Einwirkungszeit verbleibenden Ozonkonzentrationen kontrolliert wurde. In beide Zylinder wurde die gleiche Ozonmenge (etwa 1 ^{mg}) und in den einen außerdem 10 ^{mg} verdünntes Kohlenoxyd eingeführt, und nach $1^1/_2$ stündiger Einwirkung aus beiden Behältern genau 10 Liter Luft zur Ozonbestimmung abgesaugt. In



Tabelle IV. Ozon-Kohlenoxydversuche.

Nr.	Zeit des Versuches	Lichtverhältnisse	Menge des zur Wirkung kommenden Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden Kohlenoxyds	Einwirkungszeit	Es wurden abgesaugt Liter	Ergebnis	Ozonreaktion im Versuchszylinder nach Schluß des Versuches	Bemerkungen
1	16. X. 12	zerstreutes Tageslicht	1·0 mg	15 ccm (riefen in 0·02 proz. Ammonpalladiumchlorürlösung starke Schwärzung hervor)	2 Std.	4·0	ziemlich erhebliche aber **genau die gleiche** Schwärzung in beiden Absorptionsflüssigkeiten	stark +	
2	16.–17. X. "	zerstreutes Tageslicht bzw. Nacht	1·2 "	20 ccm (riefen in 0·02 proz. Ammonpalladiumchlorürlösung sehr starke Schwärzung hervor)	23 "	3·0	desgl.	" +	Die relative Feuchtigkeit wird in beiden Zylindern vor dem Versuch auf 90 Prozent gebracht
3	24. X. "	zerstreutes Tageslicht	0·56 "	25 ccm enthaltend ca. 0·4 mg CO	3 "	2·0	starke Schwärzung; Verhältnis der Palladiumausscheidung beim Kontrollversuch zu der beim Versuch = 10 : 9	" +	

Tabelle V. Ozon-Schwefeldioxydversuche.

Nr.	Zeit des Versuches	Lichtverhältnisse	Menge des zur Wirkung kommenden Ozons	Menge des zur Wirkung kommenden Schwefeldioxyds	Einwirkungszeit	Es wurden abgesaugt Liter	Ozon in der abgesaugten Luftmenge: Versuchszylinder mit SO_2	Ozon in der abgesaugten Luftmenge: Kontrollzylinder ohne SO_2	Bemerkungen
1	28. X. 12	zerstreutes Tageslicht	1·3 mg	15 ccm 1 : 20 = 1·1 mg SO_2	1 Std. 30 Min.		0·48 mg	0·46 mg	
2	29. X. "	desgl.	1·5 "	20 ccm 1 : 10 = 1·3 mg SO_2	1 " 50 "	50	0·29 "	0·35 "	
3	29. X. "	"	0·95 "	20 ccm 1 : 10 = 1·3 mg SO_2	2 " 15 "	60	0·12 "	0·34 "	
4	30. X. "	"	1·4 "	15 ccm 1 : 20 = 1·2 mg SO_2	3 " 10 "		0·57 "	0·57 "	
5	31. X. "	zerstreutes Tageslicht bzw. Nacht	1·3 "	1·3 mg SO_2	21 "	60	0·24 "	0·14 "	

den 10 Litern des Kohlenoxyd- und Kontrollzylinders waren die gleichen Mengen 0·72 bzw. 0·74 ^{mg} O_3 enthalten, es konnte also kein Ozon für eine Kohlenoxydoxydation verbraucht worden sein.

Ozon-Schwefeldioxydversuche.

In derselben Weise wie bei dem letzten Ozon-Kohlenoxydversuch suchten wir uns Klarheit darüber zu verschaffen, ob die auf Veranlassung von Riesenfeld[1] durch Borchers[2] untersuchte Oxydation von Schwefeldioxyd durch Ozon auch in starken Verdünnungen der Gase stattfindet; bei einer Reihe diesbezüglicher Versuche haben wir bei den Ozonbestimmungen das Schwefeldioxyd vorher in einer Waschflasche mit festem Kali, das von unserm chemisch hergestellten, durch Lauge gewaschenen Ozon nichts mehr aufnahm, absorbiert. Das so schwefeldioxydfrei gemachte Ozon wurde nach der üblichen Jodkaliummethode bestimmt. Das oben eingeschlagene Verfahren, das luftverschlechternde Gas selbst zu bestimmen, ließ sich in diesem Falle nicht durchführen, da es uns nicht gelang, ein Mittel zu finden, mit dem sich das Ozon-Schwefeldioxydgemisch von Ozon befreien ließ. Holz, Sulfit, Nitrit usw. absorbierten alle auch die schweflige Säure in sehr erheblichem Maße (vgl. Tabelle V).

Nach Versuch 1, 2 und 4 (Tab. V) scheint eine Reaktion zwischen Ozon und Schwefeldioxyd nicht vor sich zu gehen, nach Versuch 5 ist sogar nach 21 Stunden im Versuchszylinder noch mehr Ozon enthalten, als im Kontrollzylinder, ein Zeichen, das der Ozonzerfall Zufälligkeiten ausgesetzt, und volle Gleichmäßigkeit in dieser Beziehung nicht immer zu erreichen ist; diese Tatsache ist auch wohl für den Ausfall des Versuches verantwortlich zu machen, in dem beim Schwefeldioxydversuch das Ozon gegenüber der Kontrolle um etwa 65 Prozent vermindert ist. Da diese Versuche kein eindeutiges Resultat lieferten, haben wir in zwei großen Glasflaschen von je 15 Liter Inhalt je 5 ^{ccm} reiner schwefliger Säure entsprechend etwa 14 ^{mg} SO_2 eingefüllt, und außerdem die eine Flasche mit 15 ^{mg} Ozon, also einem geringen Überschuß beschickt. Beide Flaschen wurden während einer Stunde verschiedentlich gut durchgeschüttelt. Dann haben wir in der Annahme, daß etwa gebildete Schwefelsäure sich an den Wandungen der Gefäße niederschlagen würde, beide Flaschen mit 50 Liter Luft durchgespült zur Entfernung der nicht in Reaktion getretenen schwefligen Säure und des Ozons. Darauf wurden die Flaschen mit destilliertem Wasser mehrere Male ausgespült, und in dem Spülwasser die Schwefelsäuremengen bestimmt. Wir

[1] Riesenfeld, *Zeitschr. f. Elektrochemie.* 1911. Bd. XVII. S. 632.
[2] Borchers, *Inaugural-Dissertation.* Freiburg 1911.



erhielten im Ozonversuch eine 3·8 mg SO_2 entsprechende Menge Bariumsulfat, im Kontrollversuch nur 0·8 mg SO_2. Aus diesem Versuch geht hervor, daß Ozon im Überschuß in einer Stunde mit SO_2 allerdings in Reaktion tritt, aber nur teilweise, da ja im ganzen etwa 14 mg SO_2 im Versuch verwendet waren.

Ozon-Merkaptanversuche.

Merkaptan ist Ozon gegenüber oxydabel. Die entsprechenden Versuche haben wir analog den Ozon-Schwefelwasserstoffversuchen angestellt. Die zum Versuch verwendeten Merkaptanverdünnungen wurden in der Weise hergestellt, daß in einen evakuierten Glaszylinder einige Tropfen Merkaptan eingetropft wurden, die sich alsbald verflüchtigten; ein Teil dieses Merkaptans wurde in einen anderen trokenen Zylinder übergeführt, und nach Durchmischung aliquote Mengen davon zu den Versuchen verwandt. Da Merkaptan ohne Verlust die Röhren mit Holzstückchen passierte, so konnten diese bei der Bestimmung der im Versuch und Kontrolle verbleibenden Merkaptanmengen zur Zerstörung des Ozons herangezogen werden. Die Merkaptanbestimmung selber wurde folgendermaßen ausgeführt: Die über Holz abgesaugte Luft wurde durch zwei hintereinandergeschaltete Waschflaschen mit je 50 ccm alkoholischer n/2000 bzw. n/5000 Jodlösung geleitet, und an der Entfärbung der Jodlösungen gegenüber 100 ccm der betreffenden ursprünglichen Lösungen kolorimetrisch der Merkaptangehalt ermittelt. Merkaptan wird durch Jod in Äthyldisulfit übergeführt, ein Molekül Merkaptan verbraucht ein Atom Jod, daraus lassen sich die Merkaptanmengen leicht berechnen. Das bei diesen Versuchen verwendete Ozon war mit dem Apparat von Siemens & Halske hergestellt (vgl. Tabelle VI).

Bei Gegenwart eines sehr großen Ozonüberschusses wird Merkaptan also sehr schnell zerstört (Vers. 3), doch ist ein großer Überschuß an Ozon dazu unbedingt notwendig, wie aus 1 und 2 ersichtlich ist.

Ozon-Skatol- bzw. Indolversuche.

Zwei weitere Riechstoffe, Skatol und Indol, die nur in sehr großen Verdünnungen gasförmig zu erhalten sind, wurden in folgender Weise der Einwirkung des Ozons ausgesetzt: Die betreffende Substanz wurde in etwa 10 cm langer Schicht in ein Glasrohr eingefüllt, und dieses nach beiden Seiten mit losem Wattebausch abgeschlossen. Das Glasrohr wurde an ein T-Stück angeschlossen, das andererseits nach beiden Seiten hin zur Verhinderung des Ozondurchtritts auf die Kontrollseite mit je einer etwas Quecksilber als Abschluß enthaltenden Waschflasche kommunizierte. An



Tabelle VI. Ozon-Merkaptanversuche.

Nummer	Zeit des Versuches	Licht-verhältnisse	Menge des zur Wirkung kommenden		Ein-wirkungs-zeit	Es wurden abgesaugt	Merkaptangehalt pro Liter		Bemerkungen
			Ozons	Merkaptans			Versuch mit Ozon	Kontrolle ohne Ozon	
1	31. I. 13	zerstreutes Tageslicht	13·5 mg	ca. 3 mg	1 Std. 25 Min.	2·0 Liter	0·15 mg	0·39 mg	Da nur eine Röhre mit Holz zur Verfügung stand, so wurde sie in diesem Versuch bei der Kontrollbestimmung nicht eingeschaltet, was indessen nachgewiesenermaßen keinen Einfluß auf das Ergebnis hat. Nach dem Versuch im Versuchszylinder kein Ozon mehr vorhanden.
2	3. II. „	zerstreutes Tageslicht	9·7 „	„ 3 „	25 Min.	3·0 „	0·10 „	0·26 „	
3	3. II. „	zerstreutes Tageslicht	15-20 „	„ 3 „	25 „	3·0 „	0 „	0·17 „	

Tabelle VII. Ozon-Skatol-Indolversuche.

Nummer	Zeit des Versuches	Zur Untersuchung gelangender Stoff	Licht-verhältnisse	Gesamtmenge des zugeführten Ozons	Durchgesaugte Luftmenge	Versuchs-zeit	Ein-wirkungs-zeit	Reaktion in der Absorptionsflüssigkeit	
								Versuch mit Ozon	Kontrolle ohne Ozon
1	5.—8. IV. 13	Skatol	zerstreutes Tageslicht	—	200 Liter	20 Std. 45 Min.	ca. 10 Min.	keine Skatolreaktion	ziemlich starke Skatolreaktion
2	16.—17. IV. 13	Skatol	zerstreutes Tageslicht	ca. 90—100 mg	360 „	18 Std.	„ 5 „	keine Skatolreaktion	starke Skatolreaktion; entspricht der Intensität nach der Reaktion von 1 mg Skatol
3	22.—23. IV. 13	Indol	zerstreutes Tageslicht	ca. 53 mg	272 „	10 „	„ 4 „	keine Indolreaktion	starke Indolreaktion; entspricht der Intensität nach der Reaktion von 0·5 mg Indol

die eine Quecksilberwaschflasche schlossen sich ein kleines Glasgefäß, in das das Ozonzuführungsrohr mündete, und daran zwei je etwa 800 ccm fassende hintereinandergeschaltete Waschflaschen an, deren letzte durch ein etwa 25 cm langes und 2 cm weites mit Natriumsulfitstückchen gefülltes Rohr mit 2 nacheinander geschalteten Absorptionswaschflaschen in Verbindung stand. Auf der anderen Seite war die Versuchsanordnung die gleiche, nur fehlte die Ozonzuführung.

Wurden nun an beiden Seiten des Apparates längere Zeit hindurch die gleichen Luftmengen abgesaugt, unter gleichzeitigem Zusatz von sehr wenig Ozon auf der einen Seite, so führte die Luft von der zu untersuchenden Substanz geringe Mengen mit sich, die in den Absorptionsgefäßen der Kontrollseite und, je nachdem ob sie von Ozon zerstört oder nicht zerstört wurden, auch in der Absorptionsflüssigkeit der Versuchsseite nach längerem Durchsaugen nachweisbar werden mußten.

Zur Zerstörung des Ozons benutzten wir in diesem Falle Natriumsulfit, da Holz sich bei der verhältnismäßig großen Durchsaugegeschwindigkeit als nicht genügend wirksam erwies. Eine geringfügige Absorption der Riechstoffe durch das Natriumsulfit war natürlich in Versuch und Kontrolle die gleiche und kompensierte sich daher. Das Ozon (Apparat Siemens & Halske) wurde in sehr langsamem und stets gleichmäßigem, konzentriertem Strome zugesetzt und konnte in der Weise annähernd quantitativ bestimmt werden, daß nach Schluß des Versuches bei der vorher innegehaltenen Geschwindigkeit die Ausbeute für eine gewisse Zeit bestimmt und auf die Versuchsdauer umgerechnet wurde. Bei den Skatolversuchen wurden die auf beiden Seiten angeschlossenen Waschflaschen mit je 90 ccm Alkohol und 10 ccm verdünnter H_2SO_4 zur Absorption des Skatols gefüllt, und nach Schluß der Versuche die Skatolprüfung mit der Methylalkoholferrisulfat-Schwefelsäurerektion[1] ausgeführt.

Das Indol wurde in je 2mal 100 ccm Alkohol absorbiert und nach der Ehrlichschen Reaktion[2] bestimmt (vgl. Tabelle VII).

In den angeführten Versuchen ist stets ein hundertfacher Überschuß von Ozon zur Anwendung gekommen, der sich aus technischen Gründen nicht vermeiden ließ. Da unter diesen Umständen aber schon in ganz kurzer Zeit (4 bis 5 Minuten) Skatol und Indol vollkommen vernichtet wurden, so erscheint es nicht ausgeschlossen, daß bei vielleicht längerer Einwirkungsdauer beide Stoffe auch von geringeren Ozonmengen zerstört werden.

[1] *Biochem. Handlexikon.* 1911. Bd. IV. S. 872.

[2] *Ebenda.* 1911. Bd. IV. S. 852.



Das Natriumsulfit, das nach Schluß jeden Versuches erneuert wurde, hatte in den Kontrollversuchen starken Skatol- bzw. Indolgeruch angenommen, während das im Hauptversuch mit Ozon entstandene Zersetzungsprodukt ihm in beiden Fällen einen angenehmen esterartigen an Kumarin bzw. Pyocyaneuskulturen erinnernden Geruch verliehen hatte.

Auf Grund unserer Versuchsergebnisse müssen wir also die Befunde Kisskalts bezügl. der Ozoneinwirkung auf H_2S bestätigen, und ebenso haben wir seine Annahme bezügl. der Skatolzerstörung experimentell einwandfrei sichergestellt.

Wir stehen jedoch unter dem Eindruck, daß die von A. Erlandsen und L. Schwarz seinerzeit ermittelten Befunde bei Ozoneinwirkung auf H_2S, Skatol und Indol nicht allein durch zu geringe Ozonmengen oder auch durch zu geringe Einwirkungsdauer, sondern, wie wir jetzt annehmen, auch durch die Art des Ozons bedingt waren; haben wir doch bei unseren jetzigen Versuchen mit Ozon gearbeitet, das in der Jodkalilösung Ozonreaktion ergab, aber nicht mit Schwefelwasserstoff innerhalb von etwa $1^1/_2$ Stunden in Reaktion trat. Unser Eindruck, daß verschiedene Apparate verschieden wirken, wird schon dadurch gestützt, daß die Apparate neben Ozon mehr oder weniger Stickstoffoxyde liefern, vor allem aber auch durch die Harriesschen Arbeiten.

Harries[1] nimmt nämlich an, daß es außer dem gewöhnlichen Ozon O_3 noch ein aus vier Sauerstoffatomen zusammengesetztes Ozonmolekül, das er Oxozon nennt, gibt. Der Grund zu dieser Vermutung liegt darin, daß ungesättigte organische Verbindungen beim Ozonisieren neben den gewöhnlichen durch Anlagerung von O_3 entstandenen Ozoniden auch Verbindungen bilden, in denen vier Sauerstoffatome in das betreffende Molekül eingetreten sind. Wird nun das Ozon durch Lauge und Schwefelsäure gewaschen, so wird ein gewisser Prozentsatz absorbiert, und der Rest ist nur noch imstande O_3-Ozonide zu bilden.

Außerdem ist es Ladenburg jun.[2] gelungen, verflüssigtes Ozon in zwei ihren physikalischen Eigenschaften nach verschiedene Fraktionen zu trennen.

Da diese Fragen für die Erklärung unserer eigenartigen Ergebnisse bei den Schwefelwasserstoffversuchen sowie überhaupt für die Ozonisierung und ihre praktische Anwendung von nicht geringer Bedeutung sind, glaubten auch wir ihnen näher treten zu sollen; unsere diesbezüglichen Versuche konnten allerdings aus äußeren Gründen nicht so weit gefördert werden,

[1] *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.* 1912. Bd. XLV. S. 936. — *Zeitschrift f. Elektrochemie.* 1911. Bd. XVII. S. 629.

[2] *Berichte der deutschen physikal. Gesellschaft.* Bd. IV. S. 125—135.



daß schon darüber berichtet werden kann, doch mag wenigstens eine Erörterung des ihnen zugrunde liegenden Prinzips hier folgen.

Ruata[1] hat eine Ozonbestimmungsmethode beschrieben, die darin besteht, ozonhaltige Luft durch „Olein" hindurchperlen zu lassen und an der Gewichtsvermehrung (Ozon lagert sich an die Doppelbindung der Ölsäure unter Bildung des Ozonids an) das Ozon zu ermitteln.

Nach diesem Verfahren würden also 3 Moleküle O_4 dieselbe Gewichtszunahme verursachen wie 4 Moleküle O_3. Wenn nun, wie Harries auf Grund seiner Erfahrungen mit den organischen Ozoniden annimmt, das „Oxozon" nach der Gleichung

$$O_4 = O_2 + O + O$$

zerfällt, so müßten nach der Jodkalibestimmungsmethode ein Molekül O_4, 2 Moleküle O_3, also 3 Moleküle O_4 6 Moleküle O_3 vortäuschen. Die Jodkalimethode würde also — alles Ozon als O_3 berechnet —, je nach dem O_4-Gehalt des betreffenden Ozons höhere Ozonwerte erzielen müssen, als die Oleinmethode.[2]

Bei unseren Vorversuchen stellte sich heraus, daß Ölsäure für den vorliegenden Zweck verhältnismäßig wenig geeignet ist, da sie schon beim Durchleiten von ozonfreiem Sauerstoff unter Gewichtszunahme oxydiert wird, was besonders bei nicht übermäßig konzentriertem Ozon schon einen nicht geringen Fehler bedingt. Aus diesem Grunde ist vielleicht Zimtsäureäthylester, der, wie wir orientierend feststellten, durch Sauerstoff nur in geringem Maße angegriffen zu werden scheint, geeigneter.

Harries hat diese Fragen durch einen Vergleich der sonst üblichen gewichtsanalytischen Methode mit der titrimetrischen Methode bearbeitet. Anstatt dieses gewichtsanalytischen Verfahrens erschien es uns zweckmäßiger, das Ozon durch Zersetzung bei 300° und Ermittlung der Volumzunahme zu bestimmen, da man bei dieser Methode mit bedeutend größeren Ozonmengen und somit geringeren Fehlerquellen arbeiten kann.

---

[1] Ruata, *Estratto dall'Jgiene Moderna III.* 1910. No. 1. p. 1. — Ref. *Hyg. Rundschau.* 1910. S. 1165.

[2] Ruata hat nun allerdings gerade im Gegenteil bei seinen vergleichenden Untersuchungen mit der Oleinmethode unter gewissen Bedingungen höhere Ozonwerte erhalten, als auf titrimetrischem Wege, aber er führte diese Unterschiede auf andere Ursachen zurück; unseres Erachtens können sie auch aus dem Grunde für die Entscheidung der vorliegenden Fragen nicht in Betracht kommen, weil das verwendete Ozon aus Luft, nicht aus reinem Sauerstoff hergestellt war.



Die Ozonbestimmungen haben wir durchweg mit n/10-Jodkaliumlösungen ausgeführt, die direkt vor der Titration angesäuert wurden; in der letzten Zeit haben wir auch die von Lechner[1] vorgeschlagene und auf ihre Brauchbarkeit von ihm selbst sowie von Czako[2] geprüfte alkalische Jodkaliumlösung (gleiche Mengen n/5 Jodkalilösung + n/5 Kalilauge) benutzt und gefunden, daß die von ihm angegebenen Vorteile seiner Methode durchaus zu bestätigen sind.

Nun hat Konrich bei seinen Ozonbestimmungen höchst auffallende Befunde erzielt, indem nämlich gleiche Mengen seiner Ozonluft in konzentrierten Jodkaliumlösungen eine sehr erheblich viel größere Jodausscheidung hervorriefen, als in verdünnteren Absorptionsmitteln. Der Unterschied in den Bestimmungen schwankte je nach der Konzentration der verwendeten Jodkaliumlösung; doppelt normale und normale Lösungen gaben ziemlich übereinstimmende Ergebnisse, während n/5-Lösungen nur etwa den dritten und n/10-Lösungen in einem Falle sogar nur den sechsten Teil der Jodausscheidung lieferten, die die entsprechenden Ozonmengen in doppelt normalem Absorptionsmittel hervorgerufen hatten. Konrich hat (wie er uns liebenswürdigerweise mitteilte) die hohen in doppelt bzw. einfach normaler Jodkaliumlösung erhaltenen Werte aus dem Grunde als richtig angesprochen, da auch Treadwell[3] doppelt normale Lösungen verwandt hat.

Uns erschien es auf Grund unserer früheren Befunde, sowie der allgemein über die Jodometrie vorliegenden Untersuchungen unwahrscheinlich, daß die Ozonbestimmung mit den angegebenen Jodkaliumkonzentrationen derartig differente Resultate geben kann.

Wir haben daher die Versuche Konrichs in der Weise wiederholt, daß wir in der Mehrzahl der Versuche das mit unserem wassergekühlten Laboratoriumsapparat (Siemens & Halske) aus Sauerstoff bzw. Luft entwickelte Ozon, sowie in einem Versuch das chemisch hergestellte und durch Natronlauge von den Stickoxyden befreiten Ozon durch Luftzusatz stark verdünnten und gleiche Mengen dieser Ozonluft gleichzeitig durch zwei mit normaler bzw. n/10-Jodkaliumlösung beschickte Pettenkoferröhren oder Gaswaschflaschen saugten.

Die Ozonkonzentrationen der untersuchten Luft entsprechen zum Teil den bei Konrichs Bestimmungen verwendeten Ozonmengen, zum Teil sind sie wesentlich höher. Die Parallelbestimmungen mit normaler und n/10-Jodkaliumlösung geben in allen Fällen ziemlich übereinstimmende

[1] *Zeitschrift f. Elektrochemie.* 1911. Bd. XVII. S. 412.
[2] *Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung.* 1912.
[3] *Analyt. Chemie.* Bd. II. 5. Aufl. S. 555.



Tabelle VIII.

Vergleichende Ozonbestimmungen.

Nr.	Zeit des Versuches	Art der Absorptions-behälter	Versuchszeit	Menge der durchgesaugten Ozonluft	Art des verwendeten Ozons	In der abgesaugten Luft ermittelter Ozongehalt mit normaler KJ-Lösung	In der abgesaugten Luft ermittelter Ozongehalt mit n/10 KJ-Lösung	Pro cbm berechnete Ozonmenge
1	27. II. 13	Pettenkofer-Röhren	1 Std. 25 Min.	18 Liter	Sauerstoffozon. Laboratoriums-apparat Siemens & Halske	15·4 mg	15·4 mg	856 mg
2	25. IV. "	Pettenkofer-Röhren	3 "	104 "	Sauerstoffozon. Laboratoriums-apparat Siemens & Halske	2·1 "	1·6 "	15—20 "
3	29. IV. "	Pettenkofer-Röhren	3 "	130 "	Sauerstoffozon. Laboratoriums-apparat Siemens & Halske	4·9 "	4·5 "	35—38 "
4	28. II. "	Pettenkofer-Röhren	1 " 10 "	18 "	Luftozon. Apparat Siemens & Halske	15·8 "	15·1 "	839—878 "
5	28. II. "	Pettenkofer-Röhren	1 " 20 "	18 "	Luftozon. Apparat Siemens & Halske	4·4 "	4·2 "	233—244 "
6	1. III. "	Pettenkofer-Röhren mit anschließender Waschflasche	1 " 50 "	54 "	Luftozon. Apparat Siemens & Halske	63 "	61 "	1130—1167 "
7	3. III. "	Pettenkofer-Röhren mit anschließender Waschflasche	3 " 27 "	157 "	Luftozon. Apparat Siemens & Halske	5·6 "	5·5 "	35—36 "
8	17. V. "	Waschflaschen	1 " 30 "	61 "	chemisch hergestelltes Ozon	0·77 "	0·70 "	12—13 "



Werte; in zweien ist der Unterschied zwar prozentual ziemlich groß, bleibt an sich aber in denselben Grenzen wie in den übrigen Versuchen, in denen in fast allen Fällen die mit der konzentrierten Jodkaliumlösung ausgeführte Bestimmung ein sehr wenig höheres Ergebnis liefert. Der Grund hierfür ist jedenfalls darin zu suchen, daß das Licht in einer normalen Jodkaliumlösung in den hier in Betracht kommenden Zeiten bereits etwas Jod ausscheidet, was bei n/10-Lösungen nicht der Fall ist. Wir fanden nämlich bei einem diesbezüglichen Versuch, daß 75 ccm einer normalen Jodkaliumlösung in zerstreutem Tageslicht in $4^1/_2$ Stunden eine 0·25 mg O_3 entsprechende Jodmenge ausschied; eine n/10-Lösung, die in derselben Weise der Einwirkung des Lichtes überlassen war, gab keine Jodreaktion. Aus diesem Grunde dürfte es sich empfehlen, nicht zu konzentrierte Jodkaliumlösungen zu benutzen; die von uns verwandte n/10-Lösung wird, wo nicht allzu große Ozonmengen zu bestimmen sind, durchweg gute Erfolge gewährleisten.

Um den Widerspruch, der zwischen den Ergebnissen Konrichs, die wir also durch unsere Versuche nicht bestätigen konnten, und den vorliegenden besteht, aufzuklären, haben wir in der Vermutung, daß in Konrichs Versuchen vielleicht Stickoxyde dem Ozon beigemengt waren und die Veranlassung zu seinen differenten Resultaten geworden sind, einen der Tabelle VIII analogen Versuch gemacht, bei dem der untersuchten Luft statt Ozon Stickoxyde (aus rauchender Salpetersäure) zugesetzt wurden. Wir saugten in etwa $2^1/_2$ Stunden je 80 Liter durch die Vorlagen mit neutraler n/10- bzw. n-Jodkalilösung. Die Titration des ausgeschiedenen Jods wurde in gleicher Weise wie bei den Ozonbestimmungen ausgeführt. Wir erhielten in der n/10-Jodkalilösung eine 16·6 ccm n/100 Thiosulfat entsprechende Jodmenge, in der n-Jodkalilösung entsprach das Jod 24·3 ccm n/100 Thiosulfat, ein Zeichen dafür, daß Stickoxyde, wie sie bekanntlich die Ozonbestimmung überhaupt beeinflussen, so daß ein höherer Ozongehalt vorgetäuscht wird, so auch in Jodkalilösungen verschiedener Konzentrationen erheblich voneinander abweichende Befunde hervorrufen.

Nun benutzte Konrich bei seinen Versuchen einen Gitterapparat ohne Kühlvorrichtung. Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß seine Befunde in verschieden konzentrierten Jodkaliumlösungen bei den von ihm angewendeten geringen Luftgeschwindigkeiten mit der Wirkung gebildeter Stickoxyde zusammenhängen.



Bezüglich der praktischen Anwendung der Luftozonisierung glauben wir wie andere Autoren, daß sie bei Wohnräumen, Theatern usw. im Hinblick auf die Giftigkeit des Ozons und die bei vielen Menschen schon durch sehr geringe Ozonmengen hervorgerufenen Belästigungen nicht annähernd die Bedeutung hat, die ihr von technischer Seite zugeschrieben wird, und es erübrigt sich, auf den in der Städtezeitung. 1912. S. 144 veröffentlichten Aufsatz des Herrn Dr. P. M. Schmitz, der objektiv beweiskräftige Unterlagen für den Nutzen der Ozonventilation von Wohnräumen usw. nicht bringt, einzugehen, zumal Konrich in seiner Beantwortung der von Schmitz an die Chemiker-Zeitung gerichteten Zuschrift fast gleichen Inhalts (Chemiker-Zeitung. 1913. S. 384/385) ausführlich dazu Stellung genommen hat.

Daß die neuerdings bei der Luftozonisierung angewendeten geringeren Konzentrationen von 0·1 ^{mg} Ozon pro Kubikmeter bei dauernder Aufnahme absolut ungiftig sind, ist noch nicht bewiesen; jedenfalls ist die Möglichkeit einer Zerstörung von Riechstoffen bei diesen kleinen Ozonmengen viel geringer als in den experimentell sichergestellten Fällen, und es bleibt nur die von A. Erlandsen und L. Schwarz zuerst experimentell nachgewiesene Geruchsverdeckung durch Ozon übrig.

Eine gute Frischluftventilation, die, wenn nötig, mit geeigneten, besonders in Amerika vielfach zur Anwendung gelangenden hygienisch einwandfreien Luftwascheinrichtungen verbunden werden kann, ist in hygienischer Beziehung einer Luftozonisierungsanlage vorzuziehen, und die Kombination einer ausreichenden Frischluftventilation mit einer Ozonanlage scheint für die oben erwähnten Räumlichkeiten im allgemeinen überflüssig. Für gewisse gewerbliche Betriebe, insbesondere solche, die mit Geruchsproduktion einhergehen, scheint die Luftozonisierung bedeutungsvoll, vor allem aber scheint sie nach Angaben von Praktikern in Kühlräumen, wo das Ozon bei mit Feuchtigkeit gesättigter Luft in hoher Konzentration zur Einwirkung gelangen kann, eine Reihe von Vorteilen zu bieten, die die in solchem Betriebe übrigens vermeidbaren Nachteile des Ozons aufwiegen kann. Wir beabsichtigen, uns demnächst mit der experimentellen Prüfung der Kühlhausozonisierung eingehend zu befassen.

Schlußsätze.

Unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen haben wir mit dem uns zur Verfügung stehenden Ozon folgende Ergebnisse gehabt:

Schwefelwasserstoff tritt mit Ozon in kürzerer oder längerer Zeit, je nach Aktivität des verwendeten Ozons, in Reaktion.



Ammoniak wird nicht verändert, Kohlenoxyd tritt mit Ozon in der angewandten Konzentration innerhalb von 24 Stunden nicht in Reaktion.

Schweflige Säure wird durch Ozon nur teilweise oxydiert.

Merkaptan wird bei Gegenwart eines großen Überschusses von Ozon schnell zerstört.

Skatol und Indol werden von einem großen Überschuß Ozon zerstört. Es entstanden dadurch Zersetzungsprodukte mit einem angenehm esterartigen, an Kumarin bzw. Pyocyaneuskulturen erinnernden Geruch.

Zum Ozonnachweis empfehlen wir neutrale n/10-Jodkaliumlösungen oder alkalische Jodkaliumlösungen nach Lechner, die direkt vor der Titration, die möglichst schnell auszuführen ist, angesäuert werden müssen. Bei Benutzung von aus Luft oder chemisch hergestelltem Ozon ist auf die Anwesenheit von Stickoxyden zu achten.

[Aus dem hygienischen Institute der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch.)
(Abteilung für Tropenhygiene. Vorsteher: Prof. Dr. Knuth.)

Über die Morphologie und das Verhalten der von P. Behn in deutschen Rindern nachgewiesenen Trypanosomen bei künstlicher Infektion.

Von

Dr. med. vet. **C. Bonger,**
Veterinär im Feld-Art.-Regt. Nr. 45 in Altona-Bahrenfeld.

(Hierzu Taf. I.)

Im Jahre 1903 fand Theiler (16) im Blute südafrikanischer Rinder zwei Formen von Trypanosomen, von denen er die eine als „ordinary“, die andere als „rarer form“ bezeichnete. Da Laveran beide Formen nicht für identisch hielt, nannte er die erstere Trypanosoma theileri, letztere Trypanosoma transvaaliense. Bald darauf mußte er jedoch seine Annahme, daß es sich hier um zwei getrennte Arten handele, wieder aufgeben, da Impfungen mit Blut, das die eine Form enthielt, bei Rindern die andere Form hervorzurufen imstande waren.

Die „ordinary form“ ist dadurch charakterisiert, daß Kern und Blepharoplast weit voneinander entfernt liegen, und daß der Kern breit, kugelig oder oval ist. Am Blepharoplasten beginnt die meist lange Geißel. Die undulierende Membran ist deutlich sichtbar, das Protoplasma fein granuliert.

Der Körper der „rarer form“ ist breit, zeigt nicht immer die gewöhnliche Trypanosomenform, sondern ist zusammengezogen, rund, oval oder zerrissen. Der Kern ist größer als der der „ordinary form“, aber weniger dicht. Der Blepharoplast nimmt den Farbstoff leichter an als die übrigen Teile des Parasiten, er ist rund, stäbchenförmig oder länglich.



Das Trypanosoma theileri hat eine Länge von 20 bis 70 μ und eine Breite von 2 bis 6 μ.

Die Parasiten lebten in defibriniertem Blut bis zu 7 Tagen, wenn sie bei Zimmertemperatur oder im Eisschranke aufbewahrt wurden.

Es ließen sich nur Rinder mit Erfolg infizieren. Bei Pferden, Schafen, Ziegen, Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen trat keine Vermehrung der Parasiten ein.

Nicht alle geimpften Rinder zeigten sich empfänglich.

Die Dauer der Inkubation hing von der Menge des eingespritzten Blutes ab und schwankte zwischen 4 bis 6 Tagen. Eine Inkubation von 3 Tagen wurde nur nach Injektion von 100 bis 150 ccm Blut beobachtet. Blut war auch noch infektiös, wenn sich mikroskopisch keine Parasiten mehr nachweisen ließen, jedoch dauerte die Inkubation in solchen Fällen um so länger.

Die Zeitdauer, in der Trypanosomen im Blute nachweisbar waren, schwankte beträchtlich. Die längste Zeit war 13 Tage, die kürzeste 1 Tag, der Durchschnitt 9 Tage. Die Menge der injizierten Parasiten übte keinen Einfluß auf die Dauer des Auftretens aus.

Nach der Injektion trypanosomenhaltigen Blutes traten nicht immer Parasiten im Blute auf, sondern der Körper reagierte häufig nur durch Fieber, das schon eintreten konnte, wenn noch keine Trypanosomen nachweisbar waren.

Durch die Gegenwart der Trypanosomen im Blute wurden außer mehr oder minder hochgradigem Fieber keine Symptome hervorgerufen. Das Allgemeinbefinden der infizierten Tiere war wenig gestört.

Die durchschnittliche Höchsttemperatur bei den Theilerschen Versuchstieren betrug 40·5° C.

Soviel über das Trypanosoma theileri, das später auch durch Schilling in Togo und durch Panse auf der Insel Mafia nachgewiesen wurde.

In den Jahren 1903 und 1904 fand dann Lingard (10) in Vorderindien zwei Trypanosomenarten bei Rindern, die er Trypanosoma himalayanum und Trypanosoma indicum nannte.

Das Trypanosoma himalayanum war 40 bis 70 μ lang und 2 bis 3 μ breit. Das Protoplasma färbte sich blau und war häufig mit Körnchen übersät, die eine tiefrote bis dunkelviolette Farbe zeigten. Der Kern war schwachrot, der Blepharoplast und die Geißel tiefrot gefärbt. Das Hinterende war lang, allmählich in eine Spitze auslaufend. Der Blepharoplast war fast rund, vom Hinterende lag er 6 bis 10 μ entfernt, vom Kern 5 bis 13 μ.



Lingard unterschied drei Hauptformen; die eine verglich er mit der „ordinary form“, die andere mit der „rarer form“ Theilers. Die dritte Form ließ einen Vergleich mit einer Form Theilers nicht zu. Die Länge dieser schmalen, mit einer sehr langen Geißel versehenen Form betrug 45 μ, ihre Breite 1,14 μ. Der Kern war von ovaler bis länglicher Gestalt, der Blepharoplast breit.

Das Trypanosoma indicum hatte eine Länge von 40 bis 60 μ, eine Breite von 2 bis 3·5 μ. Lingard isolierte auch hier drei Formen, nämlich:

a) eine lange, schmale Form mit langer Geißel und spitzem Hinterende. Ihr Blepharoplast war oval und erreichte beinahe die halbe Größe des Kerns;

b) eine breite Form mit abgerundetem Hinterende, deren Protoplasma mit zahlreichen Granula angefüllt war, die sich hauptsächlich um den Blepharoplasten anhäuften. Der Kern war häufig zerfallen, die undulierende Membran ließ sich vielfach färberisch nicht darstellen;

c) eine sehr lange, schlangenartige Form, von der Lingard allerdings nur ein Exemplar im Blute beobachtete.

Die von Peter (11) im Jahre 1906 in Uruguay bei Rindern nachgewiesenen Trypanosomen hatten eine Länge von 30 bis 65 μ, eine Breite von 1·8 bis 4·5 μ. Peter unterschied große und kleine Formen. Bei den großen Formen lag der Blepharoplast näher dem Hauptkern als dem Hinterende oder in der Mitte zwischen Kern und Hinterende. Der Blepharoplast der kleinen Form lag dem Hinterende näher als dem Kern. Das geißelfreie Ende der großen Parasiten hatte eine lange, schnabelartige Gestalt, während das der kleinen viel kürzer und hakenförmig gekrümmt war. Der Kern war rund, oval oder birnenförmig. Die länglichen Kerne lagen meist in der Querrichtung und etwas schräg zur Längsachse des Körpers. Sie waren hellviolett bis zartrosa gefärbt. Der Blepharoplast war gleichmäßig groß, von runder, länglicher oder birnenförmiger Gestalt und von dunkelroter bis dunkelvioletter Färbung.

Peter konnte nur Rinder infizieren. Die Impfungen von Pferden, Schafen, Ziegen, Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Mäusen verliefen resultatlos.

Bei der Sektion zeigte sich eine Entzündung der Milz, der Leber und der Nieren.

Ferner fand Scott Falshaw (4) im Jahre 1907 in Singapore bei Rindern Trypanosomen, die eine Länge von 72 bis 84·5 μ hatten. Sie besaßen eine kurze, freie Geißel, die in einem Falle in einem feinen Knopf



endigte. Das Hinterende war bedeutend länger als das der übrigen Trypanosomen, weshalb es als eine besondere Art angesehen wurde.

Zusammen mit anderen Protozoen sah Schein (12) im Jahre 1908 bei Rindern in Indochina Trypanosomen, die 45 bis 60 μ lang und 3·2 bis 6·4 μ breit waren. Die Parasiten zeichneten sich durch ein langes, spitzes Hinterende, eine gut entwickelte Geißel und eine deutlich sichtbare undulierende Membran aus. Häufig wurden Teilungsformen mit zwei Hauptkernen beobachtet. Im ganzen waren die Trypanosomen nur in sehr geringer Menge vorhanden und daher mikroskopisch schwer nachweisbar.

Überimpfungen gelangen nur von Rind zu Rind. Negativ verliefen die Impfungen bei Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten.

Im Jahre 1909 berichtet Wrublewski (19) über bei einem Wisent in Lithauen gefundene Trypanosomen, die eine Länge von 30 bis 50 μ hatten. Das Hinterende war lang und abgerundet, der Kern lag in der Mitte, der Blepharoplast nach dem Geißelende zu. Er war stäbchenförmig und quergestellt. Die undulierende Membran war schwach färbbar. Die Geißel zeigte an verschiedenen Stellen, besonders am freien Ende, Verdickungen. Um den Kern herum sah man Anhäufungen von dunkelgefärbten Granula und in dem ganzen Protoplasma verteilt Vakuolenbildung. Wrublewski hielt das von ihm gefundene Trypanosoma für eine besondere Art.

Schoenebeck (14) beschrieb im Jahre 1910 Trypanosomen, die er bei einer Kuh in Deutsch-Ostafrika gefunden hatte. Sie waren 73 bis 74 μ lang und bis 4·2 μ breit. Der Kern war breit, unregelmäßig begrenzt und schwach färbbar. Der Blepharoplast war häufig undeutlich, zuweilen dunkelrot gefärbt. Der Protoplasmaleib zeigte Myonembildung.

Ein dem obigen ähnliches Trypanosoma wurde in Uganda beim Riedbock, Buschbock und beim Rinde gefunden und von Bruce, Hamerton, Bateman und Mackie (2) im Jahre 1910 beschrieben. Wegen seiner großen Maße — 122 μ lang und 7 bis 10 μ breit — wurde es Trypanosoma ingens genannt. Der Kern lag näher dem Hinterende als dem Vorderende. Hinter dem Kern lagen zahlreiche Körnchen im Protoplasma. Das Trypanosoma ingens war im Besitz einer freien Geißel und durch viele Myoneme charakterisiert.

Im Sommer 1912 fand A. C. Coles (3) in Parkstone in England bei der Untersuchung von Blutausstrichen einer Kuh zwei Trypanosomen, deren Morphologie er kurz folgendermaßen beschreibt. Die eine Form war 98 μ lang und 9·5 μ breit, hatte die Gestalt eines S, war in der Mitte am breitesten und lief nach beiden Enden spitz aus. Das Protoplasma war nach Giemsa dunkelblauviolett gefärbt und mit zahlreichen

Granula übersät. Myonembildung war nicht vorhanden. Die undulierende Membran war blaßlila gefärbt. Der Kern war von blaßroter Farbe, lag fast genau in der Mitte des Plasmaleibes, hatte die Form des Buchstaben B und lag quer zur Längsachse des Parasiten. Der Blepharoplast war rund, dunkel gefärbt und lag 5 μ vom Hauptkern entfernt.

Die zweite Form, die Coles „distorted stumpy form“ nennt, ließ sich nicht genau beschreiben, da sie teilweise zerquetscht war. Jedenfalls unterschied sie sich aber beträchtlich von der oben genannten durch ihr abgerundetes Hinterende, das wie von einer Scheide umgeben aussah.

Alle hier genannten Trypanosomen haben sowohl in morphologischer wie in biologischer Richtung eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Trypanosoma theileri. Das Trypanosoma wrublewski mit seiner geringen Größe und dem abgerundeten Hinterende scheint dem Theilerschen am wenigsten ähnlich zu sein, während das von Peter beschriebene Trypanosoma genanntem wohl am nächsten steht.

Den ersten Fall von Trypanosomiasis bei einem Rinde in Europa beschrieb Weber (17) im Jahre 1900. Er fand nämlich bei der Blutuntersuchung einer finnländischen Kuh, die an Piroplasmose litt, Trypanosomen.

Ein weiterer Trypanosomenbefund wurde 1908 von Frank (5) erhoben, der bei der Untersuchung eines im Kreise Oberwesterwald unter dem Bilde von Milz- und Rauschbrand eingegangenen Ochsen zahlreiche Trypanosomen fand, ohne Milz- oder Rauschbrandbazillen nachweisen zu können. Frosch (6) hielt das von Frank gefundene Trypanosoma für eine neue Art und schlug für dasselbe den Namen Trypanosoma Frank vor.

Auf Grund morphologischer und vergleichender Studien des Trypanosoma franki stellte Knuth (7) fest, daß es in die Reihe der Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma theileri gehöre.

Weitere Fälle von Trypanosomeninfektionen bei Rindern wurden im Jahre 1910 beobachtet, und zwar von Stockman (15) in London und von Schmitt (13) in Stettin. Beide Male traten die Trypanosomen neben Piroplasmen auf.

In der Tropenabteilung des Hygienischen Instituts der Königlichen Tierärztlichen Hochschule zu Berlin wurden in den letzten Jahren unter der Leitung des Herrn Prof. Dr. Knuth Untersuchungen vorgenommen, die zur Isolierung eines Trypanosomenstammes aus ganz gesunden Rindern führten.

Wie P. Behn (1) in der Zeitschrift für „Hygiene und Infektionskrankheiten“ der Haustiere bereits ausführlich geschildert hat, traten bei einem Kalbe Nr. 11, dem 11 Tage vorher ein Blutgemisch, das von vier



gesunden Rindern des Rassestalles hiesiger Hochschule stammte, in die Halsvene eingespritzt worden war, Trypanosomen in größerer Zahl auf. Sie zeigten große Ähnlichkeit mit dem Trypanosoma theileri und ließen sich durch Überimpfen von Kalb zu Kalb leicht übertragen. Da es aber nicht gelang, bei den Impflingen Kulturflagellaten von der Art, wie sie die oben erwähnten vier Ausgangsrinder beherbergten, nachzuweisen, so kam P. Behn zu dem Schlusse, daß die sogenannten Kulturflagellaten mit den im Blut des Kalbes 11 und der Passagekälber vorkommenden Trypanosomen nicht im Zusammenhange ständen.

Beides, Kulturflagellaten und Bluttrypanosomen, hat P. Behn eingehend beschrieben. Die Ausführung der Passageimpfungen und das Studium der Trypanosomen in den inneren Organen der Versuchskälber sind von Herrn Abteilungsvorsteher Prof. Dr. Knuth mir übertragen worden.

Es sei mir gestattet, über die Resultate der Untersuchungen im nachstehenden zu berichten.

Passageimpfungen durch Kälber.

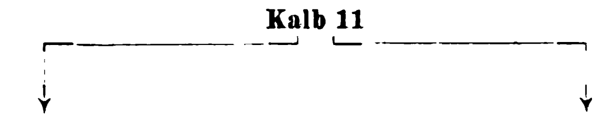
Zu meinen Versuchen dienten sechs Kälber im Alter von 3 Monaten bis zu einem Jahre. Die Infektion dieser Tiere geschah in der Weise, daß ihnen Mengen von 50 bis 150 ccm defibrinierten, infektiösen Blutes, teils rein, teils mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt, in die Halsvene gespritzt wurden. Das Mischungsverhältnis war verschieden, die Einzelheiten sind bei den betreffenden Versuchen angegeben. Vom Tage der Infektion an wurde das Blut der Kälber täglich untersucht.

Um so früh wie möglich die Gegenwart der Trypanosomen im Blute nachzuweisen, trug ich nach gründlicher Reinigung mit der Schere ein kleines Stückchen der Ohrmuschel ab. Die hervorquellenden Blutstropfen wurden mit einem Glasstabe abgenommen und sogenannte „Dicketropfenpräparate“ hergestellt, indem 2 bis 3 etwa zehnpfennigstückgroße Tropfen auf einen Objektträger gebracht wurden. Die Tropfen ließ ich entweder an der Luft trocken werden, oder trocknete sie über der Lampe. Bei letzterem Verfahren empfiehlt es sich, sehr vorsichtig und langsam zu Werke zu gehen und vor allem darauf zu achten, daß während des Eintrocknens keine Risse im Präparat entstehen, da hierdurch unklare und unübersichtliche Bilder zustande kommen. Die Tropfenpräparate wurden ohne vorherige Fixation 5 bis 7 Minuten lang in einer Giemsa-Farblösung, die auf 1 ccm destillierten Wassers zwei Tropfen des käuflichen Farbstoffes enthielt, gefärbt, dann aus der Lösung herausgenommen und entweder an der Luft oder langsam über der Lampe getrocknet.

Zwecks morphologischer Untersuchung fertigte ich nach der allgemein üblichen Methode Ausstrichpräparate an.

Schematische Darstellung der Passageimpfungen.

Kalb 11



Kalb 15
geimpft am 17. I. 1911 mit 100^{ccm} Blut von K. 11 + 50^{ccm} NaCl-Lösung. Inkubation 8 Tage. 17 Tage lang Trypanosomen nachweisbar. Höchsttemperatur am 30. I. 11 mit 40·1° C.

Kalb 17
geimpft am 13. II. 1911 mit 75^{ccm} Blut von K. 11 + 75^{ccm} NaCl-Lösung. Inkubation 10 Tage. Am 28. II. sehr zahlreiche Trypanosomen in der Blutbahn. An diesem Tage getötet. Höchsttemperatur am 23. II. mit 40·0° C.

Kalb 16
geimpft am 27. II. 1911 mit 150^{ccm} Blut von K. 17. Inkubation 3 Tage. Trypanosomen 16 Tage nachweisbar. Höchsttemperatur am 8. III. mit 41·4° C.

Kalb 19
geimpft am 14. III. 1911 mit 100^{ccm} Blut von K. 16. Inkubation 8 Tage. Trypanosomen 9 Tage lang nachweisbar. Temperatur am 22. III. 40·2° C. Am 1. IV. getötet.

Kalb 18
geimpft am 31. III. 1911 mit 75^{ccm} Blut von K. 19. Inkubation 6 Tage. Trypanosomen 7 Tage lang nachweisbar. Höchsttemperatur am 9. IV. 40·1° C.

Kalb 14
geimpft am 31. III. 1911 mit 75^{ccm} Blut von K. 19. Inkubation 8 Tage. Trypanosomen 5 Tage lang nachweisbar. Höchsttemperatur am 7. IV. 40·0° C.

Verlauf der Impfungen.

Am 17. I. 1911 wurden dem Kalb 15 100^{ccm} infektiösen Blutes von dem mehrfach genannten Kalb 11 zusammen mit 50^{ccm} physiologischer Kochsalzlösung in die Halsvene eingespritzt. Am 25. I. traten bei Kalb 15 Trypanosomen im Blute auf, die bis zum 10. II. nachweisbar blieben. Wenn als Inkubationszeit der Zeitraum vom Tage der Infektion bis zum Tage des ersten Nachweises der Trypanosomen im Blut angesehen wird, so betrug demnach die Inkubation 8 Tage. Hierbei möge bemerkt sein, daß der von mir geübte Nachweis der Trypanosomen durch die Anwendung der Methode

der „dicken Tropfen“ viel früher erfolgte, als dies durch die Untersuchung von einfachen Blutausstrichen möglich gewesen wäre. In der Blutbahn waren die Parasiten 17 Tage lang nachweisbar. Am 25. I. stieg die Temperatur auf 39·6° C, während die Höchsttemperatur mit 40·1° C am 30. I. erreicht wurde.

Am 13. II. 1911 wurden dem Kalb 17 75ccm Blut von Kalb 11 zusammen mit 75ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Am 23. II. ließen sich Trypanosomen im Blute nachweisen. Am 28. II. zeigte das Kalb sehr viele Trypanosomen und wurde an diesem Tage zwecks genauerer Untersuchung der inneren Organe getötet. Die Inkubationszeit hatte 10 Tage betragen. Am 23. II. erreichte das Tier eine Höchsttemperatur von 40·0° C.

Am 27. II. 1911 wurde Kalb 16 mit 150ccm trypanosomenhaltigen Blutes von Kalb 17 infiziert. Schon am 2. III. fand ich Parasiten im Blute, die bis zum 18. III. vorhanden waren. Die Inkubationszeit betrug also 3 Tage, 16 Tage lang wurden Trypanosomen in der Blutbahn gefunden. Am 2. III. zeigte das Kalb eine Temperatur von 39·4° C und am 8. III. ein Temperaturmaximum von 41·4° C.

Vgl. hierzu die Fieberkurve von Kalb 16.

Am 14. III. 1911 wurde Kalb 19 mit 100ccm trypanosomenhaltigen Blutes von Kalb 16 geimpft. Am 22. III. zeigten sich Trypanosomen im Blute, die bis zum 31. III. sichtbar blieben. Am I. IV. wurde das Kalb zu demselben Zweck wie Kalb 17 getötet. Die Zeit bis zu dem ersten Auftreten der Trypanosomen im Blute betrug 8 Tage, während die Parasiten 9 Tage lang nachweisbar waren. Am 22. III. hatte das Kalb eine Höchsttemperatur von 40·2° C.

Am 31. III. wurde Kalb 14 mit 75ccm trypanosomenhaltigen Blutes von Kalb 19 geimpft. Am 8. IV. konnte ich zum ersten Male Trypanosomen im Blute nachweisen. Am 13. IV. waren sie wieder aus der Blutbahn verschwunden. Die Inkubationszeit dauerte demnach 8 Tage, 5 Tage lang waren Parasiten im Blute nachweisbar. Am 7. IV., am Tage vor dem ersten Nachweis der Trypanosomen im Blute, betrug die Höchsttemperatur 40·0° C.

Am 31. III. wurde Kalb 18 mit 75ccm Blut von Kalb 19 geimpft. Am 6. IV. waren Trypanosomen im Blute nachweisbar und bis zum 13. IV. vorhanden. Die Inkubationszeit betrug demnach 6 Tage, 7 Tage hindurch wurden Trypanosomen im Blute gefunden. Am 6. IV. hatte das Kalb 39·9° C Fieber, die Höchsttemperatur zeigte es am 9. IV. mit 40·1° C.

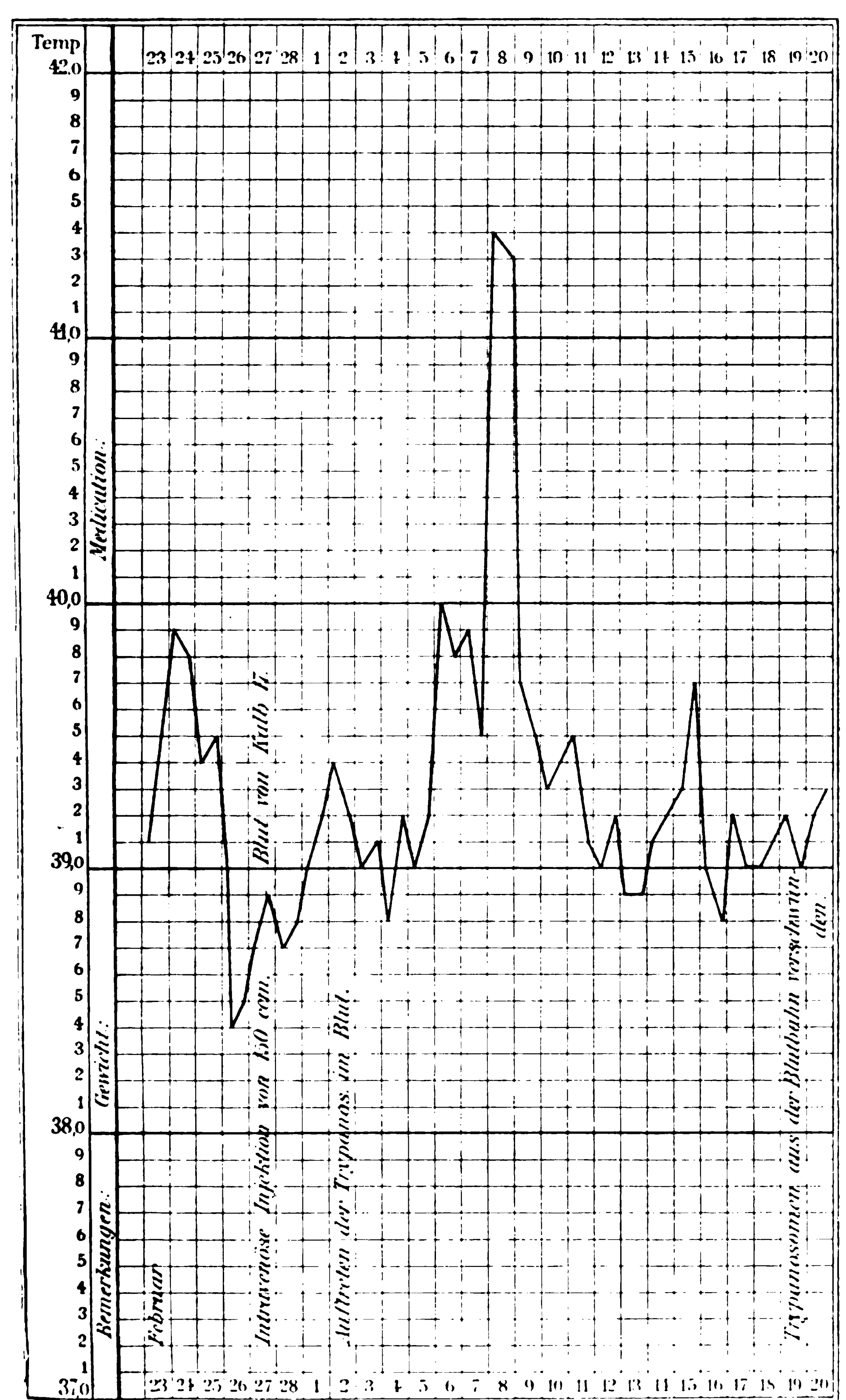
Um etwaige Veränderungen der inneren Organe und das Verhalten der Trypanosomen in den Organen studieren zu können, wurden die Kälber Nr. 17 und 19 mittels Bruststiches getötet, und zwar Kalb 17 zu einer Zeit, als Trypanosomen sehr zahlreich in der Blutbahn nachweisbar waren, Kalb 19 einen Tag nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus der Blutbahn.

Die Zerlegung des Kalbes 17 ergab eine deutliche Schwellung und Blutfülle der Milz, ebenso eine leichte Schwellung der Leber und der Nieren. Makroskopische Veränderungen des Knochenmarkes waren nicht wahrnehmbar.

Der Sektionsbefund bei Kalb 19 war negativ.



Kalb 16.


Temp
42,0
41,0
40,0
39,0
38,0
37,0
Medication:
Gewicht:
Bemerkungen:
23 24 25 26 27 28 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
Februar
Intravenöse Injektion von 150 ccm. Blut von Kalb 17.
Auftreten der Trypanos. im Blut.
Trypanosomen aus der Blutbahn verschwunden.

Durch die Schnittmethode wurden die Organe dieser beiden Kälber nicht weiter geprüft. Die Untersuchung der Organe beschränkte sich vielmehr darauf, Ausstriche anzufertigen und auf das Vorhandensein von Trypanosomen zu prüfen.

Die Herstellung der Präparate geschah in der Weise, daß Objektträger leicht über eine frische Schnittfläche hinweggezogen wurden. Die Ausstriche ließ ich an der Luft trocknen, fixierte sie 1 bis 2 Stunden in 96prozentigem Alkohol, nahm sie dann heraus, schwenkte sie ab, trocknete sie mit Fließpapier und färbte sie $1^1/_2$ Stunden lang in einer Giemsalösung, die auf 1^{ccm} destillierten Wassers einen Tropfen der käuflichen Farblösung enthielt. Hierauf wurden die Präparate aus der Farblösung herausgenommen, unter mäßig stark fließendem Wasserstrahl abgespült und mit Fließpapier getrocknet.

Nach dieser Methode habe ich Organausstriche von der Leber, dem Herzen, der Milz, der Lunge, den Nieren, dem Gehirn, dem Rückenmark, dem Knochenmark und den Lymphdrüsen hergestellt.

Der Blutbefund der Organe bei Kalb 19, das, wie schon gesagt, nach dem Verschwinden der Trypanosomen aus der Blutbahn getötet wurde, war vollständig negativ.

Bei Kalb 17 hingegen ließen sich zahlreiche und in den einzelnen Organen verschieden geformte Trypanosomen nachweisen, auf die ich im folgenden näher eingehen werde.

Im wesentlichen fand ich in den inneren Organen die bereits von P. Behn ausführlich beschriebenen drei Hauptformen, deren Charakteristika nochmals kurz zusammengefaßt werden sollen.

1. Große schlanke Formen.

Die großen schlanken Formen, durchschnittlich 55·2 μ lang und 2·5 μ breit, sind dadurch charakterisiert, daß sich ihr Protoplasma intensiv dunkelblau-violett färbt. Der hinter der Mitte des Plasmaleibes gelegene Hauptkern färbt sich tiefrot, ist meistens rund und von kompakter Struktur. Der Blepharoplast ist randständig und färbt sich dunkelviolett. Er liegt dem Hauptkern näher als dem Hinterende und hat häufig eine nierenförmige Gestalt. In dem dadurch entstehenden Ausschnitt entspringt der Randfaden, der durch eine undulierende Membran mit dem Plasmaleib verbunden ist und der nach mehreren Windungen in die Geißel ausläuft (vgl. Taf. I, Fig. 1).

2. Große breite Formen.

Die großen breiten Formen, durchschnittlich 52·3 μ lang und 5·1 μ breit, also ungefähr ebenso lang wie die großen schlanken, unterscheiden



sich meistens von letzteren durch eine himmelblaue Färbung und einen alveolären Bau des Protoplasmas. Allerdings wurden auch einige dunkler gefärbte Exemplare beobachtet. Von dem spitzen Hinterende aus verdickt sich der Körper allmählich und erreicht meist zwischen Blepharoplast und Hauptkern die größte Breite. Oft ist das Protoplasma von vielen kugeligen Granula durchsetzt, die sich tiefrot bis dunkelviolett färben. Der Hauptkern färbt sich blaß bis schön leuchtend rot, ist oval bis stäbchenförmig, meist quergestellt und füllt oft die ganze Breite des Trypanosomas aus. Der randständige Blepharoplast liegt ungefähr in der Mitte zwischen Hauptkern und Hinterende, oft ersterem etwas näher (vgl. Taf. I, Fig. 2).

3. Kleine schlanke Formen.

Die kleinen schlanken Formen, durchschnittlich 38·9 μ lang und 2 μ breit, zeichnen sich durch das eigenartig gefärbte Protoplasma aus, das häufig an die Färbung der roten Blutkörperchen erinnert. Der Hauptkern färbt sich stark und ist in der Längsachse ausgezogen. Ein weiterer Unterschied von den anderen Formen liegt darin, daß der Blepharoplast dem Hinterende näher liegt als dem Hauptkern. Der Blepharoplast ist ziemlich groß und zeigt oft eine Einschnürung. Die undulierende Membran ist nicht stark ausgebildet, der Randfaden zeigt nur geringe Windungen, die Geißel ist ziemlich lang (vgl. Taf. I, Fig. 3).

Neben obigen drei Haupttypen fanden sich noch einige andere Formen, deren Morphologie bei der Beschreibung der Trypanosomen in den einzelnen Organen dargelegt werden soll.

Der Zahl nach waren die Trypanosomen in den einzelnen Organen verschieden häufig. Im einzelnen hat die Untersuchung der Organe folgendes ergeben:

In der Leber ließen sich die meisten Trypanosomen nachweisen, pro Objektträger etwa 50 Exemplare und mehr. Alle drei Hauptformen waren vertreten. In der Überzahl befanden sich die großen schlanken Formen mit zwei Dritteln der Gesamtmenge gegenüber den großen breiten und kleinen schlanken Formen mit zusammen einem Drittel der Gesamtzahl. Ferner zeigten sich Übergangsformen in allerdings nur geringer Menge.

Während die meisten großen breiten Formen ein spitzes Hinterende aufwiesen, zeigten einige Exemplare kein spitzes, sondern ein spitzkolbenförmiges Hinterende. Ferner fanden sich einige große breite Trypanosomen, die durch eine scharf abgesetzte Färbung des Protoplasmas ein rundes Hinterende vortäuschten, während sie in Wirklichkeit ein nur schwach gefärbtes spitzes Hinterende besaßen (vgl. Taf. I, Figg. 4 und 5).

Neben diesen Formen kamen vereinzelt auch runde Formen vor. Sie waren im Besitz einer Geißel. Ihr Kern war eiförmig bis rund, von tiefroter Farbe und lag manchmal zentral, manchmal war er randständig. Das hellblau gefärbte Protoplasma zeigte viele dunkle Granula. Der Blepharoplast war rund, dunkelviolett gefärbt und lag am Rande. Der Querdurchmesser betrug durchschnittlich 9,0 μ.

In den Herzmuskelausstrichen waren wie in der Leber 50 und mehr Trypanosomen pro Objektträger zu finden, die sich auf die drei bekannten Hauptformen in der Weise verteilen, daß auf die großen schlanken etwa drei Viertel der Gesamtzahl, auf die großen breiten und kleinen schlanken zusammengenommen ein Viertel entfiel. Die großen breiten Formen hatten wie gewöhnlich durchweg ein spitzes Hinterende. Die Durchschnittslänge der großen schlanken betrug 54·5 μ, ihre Breite 2·0 μ. Die großen breiten waren 58,1 μ lang, 6·5 μ breit, die kleinen schlanken 43·1 μ lang und 2·0 μ breit.

In den Milzausstrichen fanden sich pro Präparat etwa 10 bis 12 Trypanosomen, und zwar waren zwei Hauptformen vertreten, von denen die eine Hälfte große schlanke Formen, die andere große breite Formen darstellte. Die Länge der großen schlanken betrug im Mittel 49·4 μ, ihre Breite 2·2 μ. Die Länge der großen breiten Formen 50·3 μ, ihre Breite 4·7 μ.

In der Lunge waren pro Objektträger 2 bis 6 Trypanosomen vorhanden, die zur Hälfte der großen schlanken, zur anderen Hälfte der großen breiten Form angehörten. Die großen schlanken Formen waren im Mittel 51·3 μ lang und 2·0 μ breit. Die großen breiten waren 58·7 μ lang und 7·2 μ breit. Vereinzelt kamen auch hier wie in der Leber runde Formen vor. Sie hatten eine Geißel, ihr Protoplasma war blaßblau gefärbt, der Kern lag am Rande und war von hellroter Farbe. Der Blepharoplast war randständig und dunkelviolett gefärbt. Der Querdurchmesser betrug 6·75 μ.

In den Nieren zeigten sich sehr wenig Parasiten, durchschnittlich 2 bis 5 Stück pro Objektträger. Ob die Trypanosomen aus der Rinden- oder aus der Markschicht oder aus beiden Schichten stammten, habe ich nicht entscheiden können, da die Präparate in der Weise hergestellt wurden, daß die Objektträger über den ganzen Nierenausschnitt hinweggezogen wurden. Bemerkenswert ist, daß in allen Präparaten der Niere nur eine Form beobachtet wurde, nämlich die große breite. Diese breiten Trypanosomen zeichneten sich durch eine besonders blasse Färbung ihres Protoplasmas aus. Sie zeigten eine Länge von 61·3 μ und eine Breite von 7·0 μ.

In den Gehirnausstrichen wurden pro Präparat 2 bis 3 Trypanosomen gefunden. Es ist auffallend, daß ebenso wie in der Niere auch im Gehirn nur eine einzige Form sich zeigte, und zwar nur große schlanke Individuen. Sie waren durchschnittlich 49·1 μ lang und 2·1 μ breit.

Im Gegensatz zu den bisher genannten Organen, die teils mehr, teils weniger Trypanosomen zeigten, war der Befund der Präparate aus dem Rückenmark, dem Knochenmark und den Lymphdrüsen negativ.

Im Anschluß an die Besprechungen der Passageimpfungen bei Kälbern sei hier noch der Trypanosomenbefund in der Milz eines Schlachtochsen erwähnt, der insofern interessant ist, weil die genaue morphologische Untersuchung dieser Trypanosomen die größte Übereinstimmung mit den oben beschriebenen ergeben hat.

Am 7. Oktober 1912 wurde auf dem Schlachthofe zu Potsdam bei der Schlachtung eines zu Lebzeiten gesunden Ochsen eine starke Milzschwellung festgestellt, während alle übrigen Organe von normaler Beschaffenheit waren. Da man annahm, daß es sich hier um eine noch nicht näher erforschte Blutkrankheit handele, wurde der Tropenabteilung des Hygienischen Instituts Material zur Untersuchung übersandt. Es fanden sich in Milz-, Leber- und Nierenausstrichen Trypanosomen, die in ihrem morphologischen und tinktoriellen Verhalten den von P. Behn beschriebenen Trypanosomenformen völlig glichen. Die Trypanosomen des Potsdamer Falles waren durchschnittlich 50 bis 70 μ lang und 4 bis 6 μ breit. Ein Exemplar hatte sogar eine Länge von 99 μ. Der Protoplasmaleib enthielt in Präparaten, die nach Giemsa gefärbt waren, eine auffallend große Zahl leuchtend roter, größerer und kleinerer Granula. Die Gesamtzahl der in den Ausstrichpräparaten gefundenen Trypanosomen war nur gering, es wurden pro Objektträger nur etwa vier Exemplare gezählt. Knuth und Bonger (8) haben über diesen Befund bereits an anderer Stelle berichtet.

Zusammenfassung.

Bei den von P. Behn gefundenen und von mir durch Kälberpassage weitergezüchteten Trypanosomenformen ließen sich drei Hauptformen unterscheiden:

1. große schlanke Formen,
2. große breite ,,
3. kleine schlanke ,,

Ihre Länge betrug 20 bis 70 μ, ihre Breite 2 bis 6 μ.



Infizieren ließen sich nur Rinder, denn alle bei Schafen, Ziegen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen angestellten Infektionsversuche, worüber noch von anderer Seite berichtet werden wird, verliefen negativ. Wie P. Behn schon in seiner Arbeit gezeigt hat (Rind 6), erweisen sich aber nicht alle Rinder als empfänglich. So impfte P. Behn ein Kalb 13 mit 100 ccm Blut von vier Kühen, das bei dem Kalbe 11 Trypanosomen hervorgerufen hatte, während bei Kalb 13 niemals Parasiten gefunden wurden. Immerhin war bei diesem Versuche bemerkenswert, daß die Körpertemperatur des Kalbes 13 nach der Injektion großen Schwankungen unterworfen war und an einem Tage sogar bis 40·5° C anstieg.

Die Dauer der Inkubation betrug bei meinen Versuchen durchschnittlich 7 Tage. Bei Kalb 16, dem 150 ccm Blut eingespritzt wurden, währte sie nur 3 Tage. Das Blut der einmal mit diesen Trypanosomen infizierten Kälber erwies sich auch noch infektiös, selbst als mikroskopisch keine Parasiten mehr nachzuweisen waren. Bei dem mit Blut von Kalb 11 geimpften Kalb 15 traten nämlich nach einer Inkubationszeit von 8 Tagen Trypanosomen auf, obwohl sie aus der Blutbahn von Kalb 11 seit 6 Wochen verschwunden waren.

Eine fieberhafte Reaktion wurde schon beobachtet, bevor Trypanosomen im Blute nachweisbar waren. So zeigte Kalb 14 am Tage vor dem Erscheinen der Parasiten im Blute eine Höchsttemperatur von 40·0° C.

Die durchschnittliche Höchsttemperatur aller Versuchstiere betrug 40·3° C.

Außer vorübergehendem Fieber zeigten die Kälber keine Krankheitssymptome, ihr Allgemeinbefinden war nicht gestört.

Wenn wir nun die Ergebnisse des Theilerschen und unserer Versuche miteinander vergleichen, so ergibt sich folgendes:

Während Theiler nur zwei Hauptformen des Trypanosoma theileri unterschied, haben P. Behn und ich drei beschrieben. Theilers „ordinary form" scheint identisch zu sein mit unseren großen schlanken Individuen, während seine „rarer form" mit unseren großen breiten Trypanosomen in Parallele zu stellen ist.

Die Längen- und Breitenmaße des Theilerschen und unseres Trypanosomas stimmen überein.

Ebensowenig wie Theiler war es uns möglich, außer Rindern andere Tiere zu infizieren.

Bei beiden Untersuchungen zeigte es sich, daß einzelne Rinder gegen künstliche Infektion immun waren.



Die Dauer der Inkubation stimmte annähernd überein. Bei den Theilerschen Versuchen betrug sie 4 bis 6 Tage, bei unseren 7 Tage. Sie scheint von der Menge des eingespritzten Blutes abhängig zu sein.

Theiler stellte ebenso wie wir fest, daß Blut noch infektiös sein kann, wenn mikroskopisch keine Parasiten mehr nachweisbar sind.

Die Zeit, in der Parasiten im Blute beobachtet wurden, ist annähernd dieselbe, bei Theiler 9 Tage gegenüber 11 Tagen bei unseren Versuchen.

Bei beiden Versuchsreihen ergab sich, daß einzelne Tiere auf künstliche Infektion lediglich mit Fieber reagierten, ohne daß Trypanosomen nachweisbar waren.

Die Gegenwart der Trypanosomen im Blute rief außer vorübergehendem Fieber keine Krankheitssymptome hervor.

Auch die durchschnittliche Höchsttemperatur stimmt bei beiden Versuchsreihen überein. Theiler verzeichnete 40·5° C, wir 40·3° C.

Ebenso wie Theiler gelang es auch P. Behn, Trypanosomen in Blutbouillonkulturen 7 bis 9 Tage lang am Leben zu erhalten.

Während P. Behn aber in Blutbouillonkulturen sogenannte Kulturflagellaten auftreten sah, hat Theiler über dieselben nichts berichtet.

Sollte es sich bei späteren Untersuchungen herausstellen, daß das in Südafrika vorkommende Trypanosoma theileri bei der Weiterzüchtung in Blutbouillonkulturen sich ebenso verhält wie das hier in Frage stehende deutsche Rindertrypanosoma, so dürfte damit auch dieser zwischen beiden scheinbar noch bestehende Unterschied fortfallen. Es bliebe dann nur noch zu prüfen, ob das Überstehen einer Infektion mit deutschen Rindertrypanosomen Schutz verleiht gegen eine Infektion mit südafrikanischen Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma theileri. Hierzu hat sich mir bis jetzt keine Gelegenheit geboten. Da sich die Methoden der Komplementablenkung, der Präzipitation und der makroskopischen Agglutination nach den Feststellungen von Lange (9), Zwick und Fischer (20), Winkler und Wyschelessky (18) und anderen nicht zur Differenzierung von Nagana, Dourine usw. eignen, so besteht auch keine Aussicht, daß es auf diesem Wege gelingen könnte, eine Entscheidung darüber zu treffen, ob das Trypanosoma theileri und das deutsche Rindertrypanosoma identisch sind oder nicht.

Wir müssen also vorläufig auf Grund der zahlreichen übereinstimmenden Ergebnisse annehmen, daß das Trypanosoma theileri (Bruce und Laveran) mit dem von P. Behn bei deutschen Rindern gefundenen, wenn auch nicht identisch, so doch zum mindesten sehr nahe verwandt ist.



Literatur-Verzeichnis.

1. Behn, P., Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor? *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten der Haustiere.* 1911. Bd. LXX. S. 371—408.

2. Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Trypanosoma diseases of domestic animals in Uganda. I. *Trypanos. pecorum. Proc. Roy. Soc.* 1910. Vol. LXXXII. p. 468.

3. Coles, A. C., Trypanosomes found in a Cow in England. *Parasitology.* 1913. Vol. V. p. 247.

4. Falshaw, Scott, A note on a new species of trypanosoma discovered in the blood of an indian bullock at Singapore. *The journal of tropical veterinary science.* 1907. Vol. II. p. 217.

5. Frank, Über den Befund von Trypanosomen bei einem in Stein-Wingert verendeten Rinde. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten der Haustiere.* 1909. Bd. V. S. 303.

6. Frosch, Ätiologische Ermittelungen über das Trypanosoma Frank. *Ebenda.* 1909. Bd. V. S. 316.

7. Knuth, Über die Morphologie des Trypanosoma Frank. *Ebenda.* 1909. Bd. VI. S. 39.

8. Knuth u. Bonger, Nachweis von Trypanosomen bei einem Schlachtochsen mit Milzschwellung. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift.* 1912. Nr. 44. S. 804.

9. Lange, Makroskopische Agglutination bei Trypanosomen. *Centralblatt für Bakteriol., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.* 1911. Bd. 50. Abt. I. S. 171.

10. Lingard, Different species of Trypanosomata observed in bovines in India. *The journal of tropical veterinary science.* 1907. Vol. II. p. 4.

11. Peter, Otto, Morphologische und experimentelle Studien über ein neues, bei Rindern in Uruguay gefundenes Trypanosoma. *Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene.* 1910. Bd. XIV. Beihefte. S. 261.

12. Schein, O., Haematozoa of bovidae in Indochina. *The journal of tropical veterinary science.* 1908. Vol. III. p. 202.

13. Schmitt, Zum Vorkommen von Trypanosomen vom Typus des Trypanosoma Theileri in deutschen Rindern. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift.* 1910. Nr. 44.

14. Schoenebeck, Beobachtungen eines anscheinend pathogenen, zur Gruppe des Trypanosoma theileri gehörigen Trypanosomas. *Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene.* 1910. Bd. XIV. S. 548.

15. Stockman, Preliminary Note on a Trypanosome of British Cattle. *Journal of comparative Pathology and Therapeutics.* 1910. Vol. XXIII. p. 189.

16. Theiler, A new trypanosoma, and the disease caused by it. *Ebenda.* 1903. Vol. XVI. p. 193.

17. Weber, Diskussionsbemerkung. *Beihefte zum Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene.* 1909. Bd. XIII. S. 143.

18. Winkler u. Wischelessky, Die Agglutination, Präzipitation und Komplementbindung als Hilfsmittel zum Nachweis der Trypanosomenkrankheiten, im besonderen der Beschälseuche. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift.* 1911. Nr. 51. S. 933.

19. Wrublewski, Ein Trypanosoma des Wisent von Bielowesch. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1909. Bd. XLVIII. S. 162.

20. Zwick u. Fischer, Untersuchungen über die Beschälseuche. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1910. Bd. XXXVI. S. 47.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I.)

Die mit Hilfe eines Zeichenapparates unter Verwendung des Apochromaten und des Kompensationsokulars 6 des Zeissschen Mikroskops angefertigten Zeichnungen sind das Werk des Hrn. Kunstmalers M. Landsberg. Sie stellen eine genaue Wiedergabe der mikroskopischen Bilder dar.

Fig. 1. Große schlanke Form aus der Leber.

Fig. 2. Große breite (blasse) Form aus der Niere.

Fig. 3. Kleine schlanke Form aus dem Herzen.

Fig. 4. Große breite Form mit kaum gefärbtem Hinterende aus der Leber.

Fig. 5. Große breite Form mit spitzkolbenförmigem Hinterende aus der Leber.

Fig. 6. Runde Form aus der Lunge.

Fig. 7. Große breite, schön granulierte Form aus der Milz des Potsdamer Ochsen.



Über die Bedeutung der Haustiere und des Wildes für die Verbreitung der Schlafkrankheit.

Von

Prof. **F. K. Kleine** und Stabsarzt Dr. **B. Eckard.**

Unsere Untersuchungen bilden eine Fortsetzung der Arbeit von Kleine und Fischer (1) über den gleichen Gegenstand. Damals verliefen von 13 Versuchsreihen[1], in denen infektiöse Gl. palp. viele Tage lang an gesunden Ziegen und Schafen gefüttert wurden, 9 negativ. Dagegen wurden die Affen (Cercopith. rufov.), an denen die Verfasser in denselben Versuchsreihen zum Vergleiche 2 Tage lang fütterten, sämtlich infiziert. Dies Ergebnis zeigte deutlich den Unterschied in der Empfänglichkeit der Haustiere und der Affen (also wohl ebenso des Menschen) gegen den Erreger der Schlafkranheit. Auch als Infektionsquelle schienen Ziegen und Schafe eine geringere Bedeutung zu haben. An 3 unter 7 Tieren, bei denen Tr. gambiense im Blut nachzuweisen war, gelang es nicht Gl. palp. zu infizieren. Bei den übrigen nahm mit der Länge der Zeit, die seit dem ersten Auftreten der Trypanosomen im Blut verstrichen war, die Infektiosität ab.

Zwei der damaligen Versuchstiere, Ziege 73 und Ziege 89, hatten wir Gelegenheit wieder zu untersuchen. Im September 1910 waren sie infiziert, im März 1912 ließen sich keine Parasiten im Blut (im dicken Tropfen) nachweisen. Mehrfache Blutinjektionen (10 bis 20 ccm) auf Meerkatzen blieben ohne Effekt. In der Zeit vom 9. IV. 12 bis 3. VIII. 12 wurden im ganzen 744 laboratoriumgezüchtete Gl. palp. der Ziege 73, einen Tag um den andern, 11 Tage lang angesetzt und dann an gesunden Ziegen gefüttert. Am 20. Tage töteten wir alle überlebenden Fliegen.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXX. S. 9 u. 10. (Tabelle III u. IV.)



Bei ihnen wie bei den inzwischen spontan eingegangenen ergab die mikroskopische Untersuchung niemals Parasiten. — Die Ziegen waren beide von ihrer Trypanosomeninfektion zweifellos geheilt, ein Resultat, das mit Laverans (2) Beobachtungen gut übereinstimmt.

Zur Prüfung der eingetretenen Immunität injizierten wir Ziege 73 von einem schlafkranken Affen 5 ccm Blut, ohne daß sie erkrankt wäre. Nach einer weiteren Injektion von dem infektiösen Blut eines anderen Affen wurde einmal ein Trypanosoma im Präparat gefunden. Ziege 89 erkrankte nach der ersten Injektion vorübergehend und dann wieder nach der vierten. Auffälligerweise traten die Parasiten erst volle 2 Monate nach der letzten Einspritzung auf, um nach dem Verlauf des nächsten Monats dauernd zu verschwinden.

Die Resistenz und Immunität gegen das Trypanosoma gambiense ließ sich weiterhin demonstrieren, als wir im Verlauf eines Jahres eine Anzahl Ziegen, Schafe und Rinder wiederholt mit virulentem Affenblut impften. Von 21 Tieren[1] erkrankten nur 10 nach der ersten Injektion, 5 nach der zweiten, 4 nach der dritten, 1 nach der vierten und 1 blieb dauernd gesund. Wie erwähnt, wurden alle Blutuntersuchungen im dicken Tropfen[2] vorgenommen. Die Methode bietet, sofern man sich nicht mit einer Untersuchung begnügt, sondern fortlaufend von demselben Tier Präparate anfertigt, sehr sichere Resultate, die wir außerdem mehrfach durch Verimpfen des untersuchten Blutes auf Affen kontrollierten. Der Parasitenbefund bei den infizierten Ziegen usw. war immer äußerst spärlich, häufig mußten wir eine halbe Stunde und länger suchen, bevor wir ein einziges Trypanosoma fanden. Manchmal war das Blut wochenlang parasitenfrei, bis bei einem Witterungswechsel oder auch ohne jede erkennbare Ursache die Infektion wieder zutage trat. Auffällig erschien die oft recht lange Inkubationszeit. Bei einem Schaf, das am 2. V. 1912 10 ccm Tr. gambiensehaltiges Blut injiziert erhalten hatte, konnten wir bis zum 17. VI. keine Trypanosomen nachweisen. An diesem Tage verimpften wir 10 ccm Blut von dem Schaf auf einen Affen. Der Affe erkrankte nicht. Doch wenige Tage hinterher traten im Blut des Schafs Trypanosomen auf, und nun wurde die Impfung der Meerkatze mit positiven Erfolg wiederholt. — Die Versuchstiere waren stets in gutem Ernährungszustand und boten äußerlich keine krankhaften Symptome. Dauernd parasitenfrei geworden sind während eines Jahrs aber nur drei Tiere. Daß auch sie bei erneuter Impfung mit anderen Gambiensestämmen auf kürzere Zeit erkranken werden, ist kaum zu bezweifeln.

[1] Eine fast ebenso große Zahl ist hier nicht berücksichtigt, da diese Tiere verfrüht an Durchfällen, Piroplasmosen und anderen Krankheiten eingingen.

[2] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXX. S. 3.



Um festzustellen, welchen Einfluß *unter natürlichen Verhältnissen* die erworbene relative Immunität und angeborene Resistenz gegen das Trypanosoma gambiense auf die Anzahl der Infektionen hat, untersuchten wir 113 Säuger aus Schlafkrankeitsherden am Tanganyika. 15 ccm Blut wurden aus der Jugularis oder dem Herzen jedes Tieres entnommen und gesunden Affen subkutan injiziert. 23 Buschböcke, 1 Nilpferd und 4 wilde Schweine erwiesen sich als frei von Tr. gambiense. In den Präparaten von 2 Buschböcken fanden sich Trypanosomen; da sie nicht pathogen für Affen waren, mußten sie der Gruppe des Tr. cazalboui oder Tr. nanum angehören. Ihre morphologischen Eigenschaften wurden nicht in Ausstrichpräparaten studiert, sondern wir konstatierten nur im dicken Tropfen ihre Anwesenheit.

5 Rinder, 55 Ziegen und 25 Schafe erhielten wir allmählich aus Gegenden, deren Bevölkerung mit Schlafkrankheit schwer verseucht war. An den verschiedenen Plätzen belief sich die Zahl der Infektionen unter den Menschen auf mindestens 25 Prozent, vielfach auf mehr (bis 80 Prozent). Wie lange die Tiere an den einzelnen Orten gehalten waren, ließ sich nicht genau eruieren. Doch möchten wir nach unserer Kenntnis der Verhältnisse annehmen, daß ein großer Teil dort geboren war. *1 Rind, 1 Ziege und 1 Schaf* (also 3·5 Prozent der Haustiere oder 2·5 Prozent der gesamt untersuchten Säuger) *zeigte sich mit Trypanosoma gambiense infiziert.* Die Berechtigung zu der Diagnose Trypanosoma gambiense gab uns erstens die Besonderheit der Lokalität (Palpalis- und Schlafkrankheitsherd), zweitens die Pathogenität der Parasiten, die sich auf Affen beschränkte. Für andere Versuchstiere waren sie sehr wenig virulent. Ferner das Fehlen des Tr. brucei in jener Gegend und schließlich auch die morphologische Beschaffenheit. Wir sahen nämlich niemals eine Verschiebung der Kernlage, wie man dies so häufig bei Tr. brucei und immer bei Tr. rhodesiense zu finden scheint.[1] — Natürlich verimpften wir die fraglichen Trypanosomen außerdem auf unsere gegen Tr. gambiense immunisierten Ziegen. Die erwähnte geringe Virulenz — sie zeigte sich auch gegen die Kontrollen — verkleinerte aber leider den Wert der Experimente. — Besonders interessant ist, daß in dem Blut des Rindes das Tr. gambiense nur *einmal* durch Verimpfen festgestellt werden konnte, bei zwei späteren Blutinjektionen blieben die Affen gesund. — Bei 3 Rindern, 2 Ziegen und 1 Schaf sind als Nebenbefund Trypanosomen der Cazalbouigruppe zu erwähnen.

[1] Es bleibe dahingestellt, ob das Phänomen etwas Spezifisches darstellt oder abhängig ist von einer schnellen Vermehrung der Parasiten im Blut des geimpften Tieres.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß die Haustiere wegen ihrer geringen Empfänglichkeit für das Tr. gambiense als Reservoir des Schlafkrankheitserregers eine weit unbedeutendere Rollen spielen als der Mensch. Bei der praktischen Schlafkrankheitsbekämpfung darf man diese Rolle natürlich nicht übersehen, aber besondere Maßnahmen werden wohl nur selten nötig werden, denn die übliche Sanierung der Wasserstellen, Flußübergänge usw. kommt in gleicher Weise wie dem Menschen auch dem Vieh zugute.

Wenn wir selbst im Wild das Tr. gambiense auch nicht fanden, so ist es doch nach den Beobachtungen von Duke (3) sicher, daß unter natürlichen Verhältnissen Antilopen gleichfalls infiziert sein können. Irgendwelche generellen Maßnahmen sind wegen der verhältnismäßig kleinen Prozentzahl nicht nötig, insbesondere solange die Schlafkrankheit in der Hauptsache an das Vorkommen der Gl. palp. gebunden ist. Ob und wo das Wild vergrämt werden muß, wird sich von Fall zu Fall nach den örtlichen Verhältnissen richten. Im allgemeinen zieht es sich ja ohnehin von den menschlichen Siedlungen zurück. — Die Hauptbedeutung des Wildes als Parasitenträger liegt unseres Erachtens in der von David Bruce (4) bewiesenen Tatsache, daß in Gegenden, die wegen Schlafkrankheit auf Anordnung der Regierung von Menschen gänzlich geräumt wurden, die Seuche nicht in einigen Jahren von selbst erlischt.

Unsere Ausführungen beziehen sich nur auf das Tr. gambiense; bei dem anderen Erreger einer menschlichen Trypanosomiasis, dem Tr. rhodesiense, sind die Verhältnisse noch nicht so klar, da wir diesen Parasiten von dem gewöhnlichen Viehtrypanosoma, dem Tr. brucei, zurzeit mit den üblichen Methoden nicht sicher unterscheiden können. Die Ansicht von Kinghorn und Yorke (5), das Wild im Luangwa-Tal (Nord-Rhodesia) sei zu 16 Prozent mit Tr. rhodesiense verseucht, bedarf durchaus des Beweises und ist schon deshalb äußerst unwahrscheinlich, weil sie das morphologisch ähnliche und weitverbreitete Tr. brucei in einem ausgesprochenen Morsitansgebiet überhaupt nicht fanden. — Beiläufig sei hier erwähnt, daß wir uns die Frage vorgelegt haben, ob vielleicht unter bestimmten äußeren Verhältnissen das Tr. brucei ausnahmsweise für den Menschen virulent werden kann, und ob ferner die Unempfänglichkeit des erwachsenen Menschen durch eine leichte Infektion in der Kindheit bedingt ist. Irgend einen Anhaltspunkt für derartige Vermutungen fanden wir bisher nicht. Mit Unterstützung der Stabsärzte Fehlandt, Stolowsky und Ullrich untersuchten wir in wild- und gl. mors.-reichen Gegenden unter anderen auch etwa 500 Kinder, ohne jemals Trypanosomen feststellen zu können.



Literatur.

1. Kleine u. Fischer, Die Rolle der Säugetiere bei der Verbreitung der Schlafkrankheit usw. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXX.

2. Laveran, Resistance des Chèvres et des Moutons aux Trypanosomiases; longue durée de l'Immunité acquise à la suite de ces maladies. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences.* 1911.

3. Duke, Antelope and their Relation to Trypanosomiasis. *Proceedings of the Royal Society.* 1912.

4. Bruce, Hamerton, Bateman and Mackie, Sleeping Sickness in Uganda. Duration of the Infectivity of the Glossina palpalis after the removal of the Lake-shore population. *Rep. of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society.* 1910. Nr. 10.

5. Kinghorn and Yorke, On the Transmission of Human Trypanosomes by Glossina morsitans Westw.; and on the Occurrence of Human Trypanosomes in Game. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology.* 1912.



[Hygienisches Institut der Universität Rom.]

Die Malariaabnahme in Italien.[1]

Von

Professor **A. Celli.**

Die Wiege der Malariabekämpfung ist die römische Campagna. Von diesem klassischen Boden ausgehend, hat sich die Malariabekämpfung in den letzten Jahren des vorigen Jahrhunderts über ganz Italien ausgebreitet.

Ich will zusammenfassend berichten, was hier von und durch die Italienische Gesellschaft zur Malariaforschung geleistet worden ist.[2]

I. Malaria und Ansiedelung in der römischen Campagna.

Die römische Campagna war, wie Archäologie und Geschichte unzweifelhaft lehren, nie, in keinem Zeitalter, ganz bebaut oder bewohnt. Wiesen und Wälder waren auf den Hügelketten. Der steinige Boden und die Dürre im Sommer und im Winter bei der zu heißen Sonne ließen sie für landwirtschaftliche Bebauung als ungeeignet erscheinen.

In den 25 Jahrhunderten waren aber gleichzeitig mit den vergangenen großen Blütezeiten Roms blühende Ansiedelungen und große landwirtschaftliche Betriebe in der Nähe vom Tiber, längs der Konsularstraßen und in all den humus- und wasserreichen Tälern, wo die Sonnenstrahlen die Erde nur noch mehr befruchten, entstanden. Wir finden sie zur Zeit der

[1] Vervollkommnender Bericht, auf dem internationalen Hygienekongreß in Washington gehalten.

[2] *Atti della Soc. per gli studi della malaria.* Vol. I—XII. Roma 1900—1912, e Bullettini, 1—24, Roma 1899—1912. L'opera della Soc. per gli studi della malaria, in *Malaria.* Bd. I. Hft. 1. Leipzig.



Etrurier rechts vom Tiber, zur Zeit der Volsker links vom Tiber, wir finden sie zur Zeit der römischen Weltherrschaft, im Mittelalter (8. und 9. Jahrhundert), zur Neuzeit (1600 bis 1700).

Warum konnten und blieben diese Ansiedelungen nicht wie überall bestehen?

Alle schieben die Schuld auf die traurigen politischen und ökonomischen Verhältnisse, besonders auf die Kriege und die Einfälle der Barbaren und Sarazenen, die Feudalherrschaft, innere Streitigkeiten.... Diese hörten, wie überall anders, auch einmal auf, sie konnten höchstens zeitweise die Bebauung des Landes hindern, aber nicht den Ackerbau in der Nähe einer großen Stadt mit entsprechenden Verbrauchsbedürfnissen gänzlich zerstören.

Es ist direkt lächerlich, die Päpste beschuldigen zu wollen, eine Wüstenei um Rom absichtlich erhalten zu haben, damit der Sitz der Päpste um so herrlicher leuchten sollte. Es ist nachträglich bewiesen worden, daß von Zacharias I. bis auf Pius IX. die Päpste das Fatum, das vor ihrer zeitlichen Herrschaft herrschte und sich nicht verlor, wenn sie sie verloren, mit allen ihnen zu Gebote stehenden Waffen zu besiegen suchten.

Alle beschuldigen und beschuldigten den zu ausgedehnten Besitz in Händen einiger weniger Fürsten und Geistlichen, die egoistische Bequemlichkeit, die Früchte ohne viel Mühe zu genießen, und ihre Unfähigkeit als Landwirte.

Diese unserer privilegierten Kaste entschieden anhaftenden bedauernswerten Eigenschaften hinderten sie aber nicht, wieder und immer wieder neue blühende landwirtschaftliche Versuche in der römischen Campagna anzustellen und sie nicht weit von dort auf den herrlichen Hügeln der römischen Castelli zu erhalten.

Den Schlüssel, um das Geheimnis der Ansiedelung der römischen Campagna kennen zu lernen, muß man nicht bei Menschen und menschlichen Ereignissen suchen, die klein und vergänglich sind, sondern bei einer Macht, die über dem menschlichen Willen steht, und die dem Menschen stets mehr oder minder feindlich gesinnt war: der **Malaria**, die seit 25 Jahrhunderten dort hauste.

Es ist bekannt, daß seit dem vorigen Jahrhundert die moderne Biologie die Ursache der Malaria in den Protozoen und den Insekten gefunden hat.

Da es sich also um ein biologisches Phänomen handelte, sah man bald, daß, wie alle großen und kleinen Lebensäußerungen, die Malaria im Laufe der Jahrhunderte, wie jetzt im Laufe der Jahre, Monate und Fiebertage, abwechselnd einmal stärker, einmal schwächer auftrat.

In den günstigen Zeiten, die meist mit den großen vergangenen Blütezeiten zusammentrafen, wurde die umliegende Campagna intensiv bebaut, und die fruchtbaren Täler bevölkerten sich wieder, um die Stadt zu ernähren und zu bereichern.

Aber das erneuerte Auftreten der Seuche fegte wie ein Sturmwind gegen die Gesundheit und das Leben der Menschen und des Viehes jede Spur einer landwirtschaftlichen Ansiedelung fort.

Mit dem 20. Jahrhundert hat eine neue Epoche in der Geschichte der Ansiedelung der römischen Campagna begonnen.

Wer von der Höhe des Tuskalum oder vom Tivoli aus die majestätische Campagna betrachtet, oder wer von der Eisenbahn, elektrischen Bahn, oder vom Automobil aus auch nur einen flüchtigen Blick auf sie wirft, genießt das Schauspiel, daß im Aniotal und in einem Gürtel 10 km um die Stadt neue Häuser mit weißen Mauern und roten Dächern überall entstehen und entstanden sind, und grüne Oasen mit blühenden Feldern zwischen den öden jahrhundertelang dauernden Latifundien wahrzunehmen sind. Bei der neuen Ansiedelung befolgen wir nur das, was unsere Vorgänger ebensogut schon mehrmals ausgeführt haben, d. h. dieselben hydraulischen Meliorationsarbeiten, dieselben Intensiv- und Bewässerungskulturen. Nicht selten sehen wir gerade da, wo uns die Überbleibsel einer Tuffsteinmauer oder Reste einer Statue oder von Marmorsäulen, mittelalterliche Türme und große nach der Renaissance erbaute Gutshäuser an die vier großen vergangenen landwirtschaftlichen Blütezeiten erinnern, neue Gebäude und neue Dörfer entstehen.

Die fünfte Ansiedelung wird nicht wieder wie die vier vergangenen untergehen, denn nunc licet habitare salubribus in der Campagna.

Die Ansiedelung ohne Menschenopfer und ohne Viehverluste ist das neue Faktum, das am Anfang des 20. Jahrhunderts am klassischen Horizont dieser geweihten Erde aufgegangen ist, und das die ganze malariaverseuchte Welt zum neuen Leben erweckte.

Das erste Arbeitsfeld, um zur Erkenntnis der neuen Tatsache zu gelangen, sei es durch wissenschaftliche Untersuchungen, sei es durch praktische Anwendung, war ein kleines Gut in der römischen Campagna.

II. Die Cervelletta.

Hygieniker und Landwirte kennen wenigstens vom Hörensagen den in der Malariageschichte denkwürdigen Namen.

Wer heute die wunderbaren hygienischen und landwirtschaftlichen Arbeiten zu bewundern kommt, kann sich nicht immer denken, daß das Gut noch 1895 eine Wüstenei war.

Halb verfallen war das majestätische Gutshaus, das der Kardinal Scipio Borghese neben dem mittelalterlichen Turme 1628 hatte erbauen lassen, verschüttet die riesigen Kuhställe, ein pestilenzialischer Sumpf die früher künstlich bewässerten Wiesen. Ein einziger Wächter blieb vom Sommer bis zum Winter, um ein paar halbwilde Kühe zu beaufsichtigen. Die nächste Eisenbahnstation Cervara und die umliegenden Bahnwärterhäuser auf der Linie Rom—Tivoli waren Krankenhaus und Kirchhof zugleich für alle von der Malaria Heimgesuchten. Einige lombardische Pächter hatten plötzlich den Mut (was damals Wahnsinn schien), diesen verseuchten Ort meliorieren zu wollen.

Gleich im Sommer 1896 wurden sie, ihre Familien und die Bauern von der Malaria befallen.

Im Herbst desselben Jahres richtete die Rindermalaria unter den schönen lombardischen Milchkühen Verheerungen an.

Die Amerikaner Smith und Kilborne hatten uns gelehrt, daß man die Seuche vermeiden kann, wenn man das Vieh im Stall läßt, d. h. wenn man es im Sommer nicht auf die Weide schickt, wo es von den Zecken (Rhipicephalus annulatus und Boophilus bovis) gestochen und infiziert wird.

Diesen Rat erteilte ich nun auch hier, der pünktlich befolgt wurde, und keines der Rinder erkrankte mehr, während auf den benachbarten Gütern, wo der einfache, aber wirklich prophylaktische Rat vorläufig noch nicht befolgt wurde (später wurde er es dort auch), die Hekatombe fortdauerte.

Aber die Menschenmalaria wütete weiter. 1898 erkrankten alle Gutsbewohner, und einige sogar an sehr hartnäckigen Formen, obgleich mit Chinin, weiß Gott, nicht gespart wurde.

Im Mai desselben Jahres erbrachte Ronald Ross nach langen genialen Forschungen den Beweis der Anophelinentheorie, den unsere Kollegen Grassi, Bastianelli und Bignami sofort bestätigen konnten.

Sie wurde von uns auf unserem Malaria-Experimentierfeld in der Cervelletta auf die Probe gestellt und kontrolliert.

Bald mußten wir einsehen, daß die Entdeckung ebenso glänzend auf wissenschaftlichem Gebiete war, als wenig nützlich auf praktischem Gebiete.

Die Vertilgung der Stechmücken, die wir wieder und wieder auf die verschiedensten Weisen versuchten, war auf dem Lande nicht möglich.

Die noch so gut ausgeführten hydraulischen Meliorationsarbeiten lassen ab und zu in den Kanälen zwischen den unvermeidlichen Sumpfpflanzen Anophelinenbrutstätten entstehen.

Die Landwirtschaft braucht zur Zeit der Dürre Wasser zur künstlichen Bewässerung; das hatten sich die Landwirte mit großer Mühe ver-

schafft, und obgleich die Anlagen noch so gut waren, trugen sie doch dazu bei, den Anophelismus zu erhalten. Theoretisch war es schon schwer ihn zu vermeiden, praktisch wollte der Landwirt, der auch auf seine Rechnung kommen mußte, überhaupt nichts davon hören.

Glücklicherweise sahen meine Mitarbeiter und ich bald ein, daß ohne die Anophelinen zu berühren, man anderwärts völlig gesunde Gegenden findet, wo der Ackerbau blüht!

Da wir aber nicht auf die praktischen Maßregeln, die auf die neuere Roßsche Theorie logisch folgen mußten, verzichten wollten, versuchten wir, den Menschen vor den Stichen der Anophelinen zu schützen.

Nach zweijährigen wiederholten Versuchen mußten wir uns ungern überzeugen, daß es schwer war, von den Eisenbahnbeamten zu verlangen, sich die unbedeckten Teile ihres Körpers mit Kapuzen, Visieren oder Handschuhen zu bedecken, daß dies aber bei den Bauern gänzlich ausgeschlossen ist. Auch der Schutz der Häuser durch Drahtnetze an den Türen und Fenstern war für die Pächterfamilien sehr nützlich, aber für die Hütten und Höhlen der Bauern ebenso teuer als unpraktisch.

Wir mußten also auch bei unseren Bauern auf diese zweite Maßregel, die mechanischen Schutzvorrichtungen, verzichten, die von der neuen Anophelinentheorie herrührte.

Wir mußten versuchen, der Jahrhunderte dauernden Seuche von einer anderen Seite Herr zu werden, wir mußten versuchen, die Malariaparasiten im Blute des Menschen selbst zu töten, und zu diesem Zweck wandten wir, besser als früher, das alte immer vorzügliche spezifische Heilmittel, das Chinin, an, um dem Fieber vorzubeugen, mehr noch als um der Malariainfektion Herr zu werden.

Wir mußten nach und nach alle die Unzulänglichkeit, durch die es in Verruf gekommen war, ausschließen und von Grund auf seine Wirkungsfähigkeit untersuchen. Vom Gesichtspunkt der neuen Anophelinentheorie aus mußten wir die Malariaepidemieen und die alten und neuen Methoden, um sie zu bekämpfen, von vorn beobachten und untersuchen.

Nach dem Vorbilde der Cervelletta richteten wir daher in den verschiedenen Teilen Italiens auf dem Lande zahlreiche

III. Malariauntersuchungsstationen

ein. Auch außerhalb Italiens, in Holland, Rußland, Algier, Griechenland, Tunis, Bulgarien wurden ähnliche Untersuchungsstationen eingerichtet.

Aus all den vergleichenden Untersuchungen ging eine Reihe neuer wissenschaftlicher und praktischer Kenntnisse hervor, die ich hier kurz anführen werde.

Die Gradmesser einer Malariaepidemie sind mannigfaltig, und zwar: Perniciosität, Todesfälle, Erkrankungen der ganzen Bevölkerung oder bestimmter Gruppen (Schulkinder, Soldaten, Eisenbahnbeamte, Bergleute, Bauern),mehr oder minder hartnäckige Rezidive, Hausepidemien, Kindererkrankungen, der sogen. Index megalosplenicus, Verhältnis der leichten zur schweren Tertiana.

Letzteres allein ist der genaueste Gradmesser einer Malariaepidemie von einem Jahr zum anderen.

Außer der Virulenz muß man die Verbreitungsfähigkeit der Malariahämosporidien in Betracht ziehen.

Danach kann man Italien betreffs der Malaria in drei Teile teilen: Der erste mit schwerster Malaria: längs des tyrrhenischen und ionischen Meeres mit der größten Verbreitungsfähigkeit und Virulenz der Ästivoautumnalparasiten, fälschlich Tropenparasiten genannt. Der zweite: mit mittelschwerer Malaria: viel leichte Tertianaparasiten in der venetianischen Tiefebene, den toskanischen Maremmen, dem südlichen Kontinent. Der dritte: in Oberitalien in dem nach dem adriatischen Meere zu gelegenen Teile mit absolutem Vorherrschen der Tertianaparasiten.

Die Rezidive sind sowohl für die Malaria-Epidemiologie als für die Prophylaxis von größter Wichtigkeit.

Wir haben versucht, es ist uns aber bis jetzt nicht gelungen, eine leichte und raschere ätiologische Methode zur Diagnose der latenten und Rezidivinfektion zu finden.

Da wir vorläufig nur klinische Anhaltspunkte haben, wurde auf die zufälligen Ursachen der Rezidive (Dr. Caccini) und die Gesetze, die sie nach kurzen und langen Zwischenräumen regeln, näher eingegangen.

Für gewöhnlich geht dem eigentlichen Fieberanfall eine Temperaturerhöhung voraus. Das Fieber selbst kann leicht und schwer sein, von schwerer Anämie bei der schweren Tertiana, von leichter oder gar keiner bei der leichten Tertiana und Quartana gefolgt sein.

Träger latenter Infektion mit Parasiten im kreisenden Blut ohne klinische Erscheinungen findet man nicht nur unter den Kindern, sondern auch unter den Erwachsenen.

Trotz eingehendster Behandlung rezidivierten die Kinder im Verhältnis von 38 Prozent und die Erwachsenen von 51 bis 52 Prozent. Das Kindesalter ist also für die Rezidive nicht besonders prädisponiert, wenn die Behandlung sofort eingreift.

Die Quartanaparasiten rezidivieren mehr als die leichten Tertianaparasiten, und letztere mehr als die der schweren Tertiana.



Die Rezidivität wechselt häufig je nach Orten und Jahren. Wenn die Epidemie schwer auftritt, kommt eine präepidemische Zunahme vor; eine prozentische Rezidivzunahme ist auch möglich.

Die Parasitenformen, die die Rezidive und die latente Infektion im Menschen erhalten, sind noch unbekannt. Der morphologischen Hypothese Grassis und Schaudinns über die Pathogenesis der weiblichen Gameten und Craigs über die endoglobuläre Verbindung der Mononten steht die biologische Hypothese Bignamis gegenüber, der folgend Ehrlich annimmt, daß die Rezidive aus Formen eines pyrogenen Zyklus herrühren, die gegen Chinin widerstandsfähig geworden sind und es auch erblich bleiben.

Die Diagnose der latenten Malaria ist weder morphologisch noch biologisch möglich, da auch alle Versuche der Serumdiagnose (Hämolyse usw.) zu keinem Ziele geführt haben.

Es ist manchmal leicht, manchmal schwieriger, die Anophelinen künstlich zu infizieren. Die Bedingungen seitens der Anophelinen, der Gameten und der Umgebung, die dazu beitragen oder es verhindern, müssen noch genauer festgestellt werden; das ist noch ein anderer hauptsächlicher Punkt für die Malariaepidemiologie und Prophylaxis.

Was den Zusammenhang zwischen Anophelinen und Malariaepidemie anbetrifft, so ist zweifellos festgestellt worden, daß, wo Fieber herrscht, niemals die Anophelinen fehlen, ihre Anzahl ist aber in keinem Verhältnis, ja oft im gegenteiligen Verhältnis zur Schwere der Epidemie.

Selbst in heißen Klimaten findet man Sümpfe und Anophelinen ohne Malaria, wenn auch Malariafälle von außerhalb eingeschleppt werden und einige autoktische oder sporadische Fieberfälle vorkommen.

Sümpfe und Anophelinen können auch fortdauern, wenn die Malaria abnimmt oder erlischt; man kann also auch die Malaria bekämpfen, ohne die Anophelinen zu vertilgen.

Selbst die Reisfelder, eine künstliche Brutstätte für Anophelinen, sind für die fortschreitende Abnahme der Malaria und ihr gänzliches Erlöschen kein Hindernis. Dasselbe gilt für die anderen künstlichen Bewässerungskulturen.

Die Wälder, die Buschwälder, die niedrigen Gehölze sind in Sumpfgegenden in der Ebene oft Stechmückennester und tragen viel zur Malariaverbreitung bei. Die Entwaldung ist der erste Schritt zur Sanierung eines Geländes.

Die fäulnishaltigen Gewässer der Flachs- und Hanfrottegruben töten die Anophelinenlarven; sie sind daher eher ein sanierendes Element als Ursache der Malaria.



Die intensive Bebauung und die Ansiedelung lassen mit der Zeit die Malaria abnehmen und aufhören. Neue Untersuchungen sind aber nötig, um der landwirtschaftlichen Umgebung die richtige Stelle in dem biologischen Zyklus der Hämosporidien einzuräumen im Vergleich zu den beiden anderen Faktoren: Anophelinen und Mensch.

Auch der Zusammenhang zwischen Malaria und Jahreszeiten muß noch näher erläutert werden.

Gewiß ist, daß die Malariaepidemie dem allgemeinen Gesetz vom Rhythmus unterworfen ist; sie tritt in periodischen Zyklen, im Laufe der Jahrhunderte, der Jahre und der Monate auf.

Der monatliche Zyklus drückt dem lokalen Epidemiezyklus den Stempel auf, den ich in einen Nordeuropas, einen Nord- und einen Süditaliens eingeteilt habe mit den Übergangsformen, die hervorgerufen werden, wenn die Parasiten der leichten Malaria in absolutem oder in relativem Sinne vor den Parasiten der schweren Malaria vorherrschen, oder umgekehrt.

In analogem Sinne gibt es also den Frühjahrsepidemietypus der leichten Tertiana, den Sommer-Herbsttypus der schweren Malaria und den Herbsttypus des Quartanafiebers. In Bulgarien, Griechenland, Ungarn und Rußland kommen dieselben Typen wie in Italien vor. Wo die Malaria auch in Süditalien und auf den Inseln in der Abnahme begriffen ist, erstreckt sich nach und nach der Typus Norditaliens.

Die Vielfältigkeit der Epidemietypen für die verschiedenen Spezies derselben Hämosporidienart und der Wechsel von einem Jahr zum anderen an ein und demselben Orte beweisen, daß zu ihrem Entstehen der Einfluß der Jahreszeiten nur im weiten Sinne aufgefaßt werden kann.

Der jährliche Zyklus ist auch in den verschiedenen Teilen Italiens etwas anderes.

Man kann versuchen, ihn nach statistisch sanitären Daten, die schon längere Zeit gesammelt worden sind, wie im Ospedale maggiore von Vercelli und in den römischen Zivil- und Militärkrankenhäusern zusammenzustellen. Daraus ersieht man einen Rhythmus nach langen Zwischenräumen, beinahe alle 10 Jahre, um 1859—1869—1879—1889, und einen Rhythmus nach kürzeren Zwischenräumen, beinahe alle 5 Jahre.

Letzteres sieht man deutlicher in den letzten Jahren, seitdem die ätiologische und klinische Diagnose genauer ist, außerdem geht es auch aus dem Verlaufe der Malariasterblichkeit in ganz Italien von Latium abwärts und auf den Inseln hervor. Dem Jahrhundertzyklus fängt man jetzt an durch die neuesten Forschungen über die Geschichte der Malaria nähere Aufmerksamkeit zu schenken. Z. B. habe ich hier in der römischen



Campagna in 25 Jahrhunderten bis jetzt in großen Umrissen vier große aufeinanderfolgende aufsteigende Phasen oder Malariazunahmen und ebensoviel Abnahmen und Sinken der Malaria feststellen können. Die letzteren gleichzeitig mit den vier großen Blütezeiten der hiesigen Landwirtschaft, der präromanischen, der zur römischen Kaiserzeit, der im Mittelalter (8. und 9. Jahrhundert) und der nach der Renaissance. Der Mechanismus, der alle die verschiedenen Zyklen und Rhythmen und ihre einzelnen Stadien regelt, ist immer noch ganz in Dunkel gehüllt, aber aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich eher um wunderbare innere Eigenheiten des lebenden Protoplasmas der spezifischen Protozoen, als um eventuelles Zusammentreffen äußerer Faktoren (Klima usw.). Auf jeden Fall steht fest, daß das Gesetz vom Rhythmus oder vom Zyklus, wie in der ganzen Biologie so auch bei der Malaria, jede einzelne Fiebermanifestation, jeden periodischen, sei es monatlichen, jährlichen und Jahrhunderte dauernden Epidemiezyklus beherrscht. Wie jeder Fieberanfall, so hat auch jeder periodische Epidemiezyklus zwei Phasen, die aufsteigende und die abnehmende. Man muß den Rhythmus und seine Phasen genau in Betracht ziehen, um die Wirkung jedes antipyretischen Mittels zu beurteilen und um eine Prognose der Epidemie zu stellen, besonders aber um unserer Prophylaxis den richtigen Wert zu erteilen durch Trennung dessen, was an spontanem Sinken der Epidemie oder an natürlicher Steigerung erfolgt, und was das Werk unserer antiepidemischen Tätigkeit ist.

Chininstudien.

Chinin wurde schon reichlich angewandt, aber mehr um den Fieberanfall abzuschneiden, als die Infektion direkt zu behandeln und noch viel weniger um ihr vorzubeugen.

Tatsächlich hatten Unzuträglichkeiten den Gebrauch des ausgezeichneten Heilmittels beschränkt: vor allen Dingen der ekelhaft bittere Geschmack; die Utopie, daß die Chininpräparate non agunt nisi soluta in aqua, daher die Verbindung des Chinins mit Säuren, wie der Schwefelsäure, die ebenso heterogen wie irritierend auf unsere Magen- und Darmschleimhäute wirkt; dann die schlechte Zubereitung als Bitterwasser, Pulver, in Oblaten, als Liköre, die man unmöglich so lange einnehmen konnte, um des Fiebers gänzlich Herr zu werden. Wegen des unvollkommenen und zu kurzen Chiningebrauchs kamen die anhaltenden hartnäckigen Rezidive vor, deshalb auch das Mißtrauen und die dem Chinin beigelegte Schuld an den von Malaria stammenden Beschwerden (Bleichsucht, Splenomegalie und Hepatomegalie). Ferner kamen die Intoxikationserscheinungen (Ohrensausen, Zittern, Amaurosis) nach zu großen Dosen der leicht löslichen Präparate bei hypersensiblen Menschen vor. Endlich



muß man noch den zu teueren Preis und die leicht möglichen, sehr einträglichen Fälschungen in Betracht ziehen. Alles dieses hatte dazu beigetragen, den Gebrauch unseres Heilmittels so herabzusetzen, daß es immer nur widerwillig und so wenig wie möglich eingenommen wurde, also nie zu einer eingehenden Kur und weit weniger, um der Malariainfektion vorzubeugen.

Wir mußten also zuerst in der Cervelletta und dann in allen anderen antimalarischen Untersuchungsstationen diese Unzuträglichkeiten zu vermeiden suchen.

Wir fingen mit dem Gebrauch weniger bitterer Chininsalze an: Euchinin und Chinintannat; sie und auch die anderen Chininsalze wurden als verzuckerte Tabletten oder Schokoladepastillen verabreicht.

Professor Gaglio und seine Schüler der römischen pharmakologischen Schule stellten nochmals eingehende Studien über den Mechanismus der Chininresorption und -ausscheidung an und kamen nach und nach zu folgenden Schlußfolgerungen:

a) Eine Hauptbedingung der guten Resorption ist die Verabreichung in möglichst angenehmer Form (verzuckerte Tabletten, Schokoladepastillen).

b) Chininhydrat oder wasserfreies Chinin oder die in Wasser unlöslichen Verbindungen (Tannat) werden ebenso gut resorbiert wie die im Wasser löslichen Salze.

c) Chinin wird wie im richtigen Verdauungsprozeß resorbiert; d. h. es tritt im Magen eine geringe Verbindung mit HCl ein, eine hauptsächliche Verbindung aber mit den Gallensäuren und dem CO_2 des Darmkanales.

d) Ob der Magen voll oder leer ist, ist für die Chininresorption nicht wichtig.

e) Tägliche (mittlere, d. h. 30 bis 40 cg) Chinindosen können besser und länger vertragen werden, als man anfänglich glaubte; nach den ersten 2 bis 3 Tagen hört das Ohrensausen auf. Das Chinin ist ganz unschädlich; es wirkt sogar als Nährmittel und besonders auf den Verdauungs-Muskelapparat und erzeugt Appetit und Arbeitskraft.

f) Das täglich eingenommene Chinin häuft sich im Blute auf beinahe das doppelte der anfänglichen Dosis und vermeidet auf diese Art die Chinismusbeschwerden, statt sie hervorzurufen. Es gibt kaum ein anderes Beispiel der so völligen Gewöhnung an ein Heilmittel, die sofort eintritt, die sich 5 bis 6 Monate fortsetzen läßt, und die man, wenn man will, ohne irgendwelche Beschwerden unterbrechen kann, und ohne daß die Gewöhnung des Organismus an kleinere und mittlere Dosen die kurative Wirkung der größeren Chinindosen, wenn sie gegeben werden, vermindert.

g) Die Nierenausscheidung dauert, welches Präparat und in welcher Form es auch verabreicht worden ist, nie länger als 3 Tage.

h) Wenn man Chinin nach längeren als 3tägigen Pausen gibt, stellen sich jedesmal die Beschwerden des Chinismus wieder ein. Die Methode Kochs und anderer, Chinin alle 4—7—10 Tage zu geben, mußte bei länger fortgesetzter vorbeugender oder kurativer Behandlung der täglichen, 2tägigen und höchstens 3tägigen Methode den Platz räumen.

i) Die im Wasser unlöslichen Salze werden vom Verdauungsapparat und vom Nervensystem am besten vertragen, weil sie durch den Verdauungsmechanismus langsamer resorbiert werden.

k) Zu subkutanen Einspritzungen sind neutrale Lösungen (Äthyluretan) oder sehr verdünnte vorzuziehen, sonst dauert die Resorbierung länger als per os.

l) Das Chinin fixiert sich mit Vorliebe auf die roten Blutkörperchen und die Affinität für die Hämatien, wo sich die Plasmodien einnisten, bestätigt die elektive und parasitrope Wirkung des Mittels. Das Chinin fixiert sich auch in den Organen (Nebennieren, Milz, Leber, Nieren, Pankreas, Gehirn); es bleibt dort länger vorhanden als im Blute. Die organotropen Wirkungen des Chinins, besonders bei empfindlichen oder an Idiosynkrasie oder an Schwarzwasserfieber leidenden Individuen, werden sehr beschränkt und hören überhaupt auf, wenn man es in kolloide Verbindung mit Gerbsäure (sog. Tannate) oder mit einigen Lipoiden (Lezithin, Cholesterin) bringt.

m) Die parasitotrope Wirkung des Chinins steht ceteris paribus im umgekehrten Verhältnis zur Entwicklung der Hämosporidien im Blute, d. h. sie macht sich geltend hauptsächlich bei den Spirochäten, wenig bei den Formen, die die Rezidive hervorrufen, gar nicht oder nur ganz gering bei den Gameten.

n) Wer täglich Chinin einnimmt und im Blute immer Chininvorrat hat, kann ungestraft die Einimpfungen des mit Hämosporidien gesättigten Blutes ertragen und kann sich mit weit geringerer Gefahr den Stichen der infizierenden Stechmücke aussetzen.

o) Die Widerstandsfähigkeit der die Rezidive hervorrufenden Formen und der geschlechtlichen Formen ändert sich nach verschiedenen individuellen und allgemeinen Bedingungen, die noch näher erläutert werden müssen.

p) Auf jeden Fall hat weder Arsenik noch Eisen mit dem Chinin zusammen größere Wirkung auf die oben erwähnten Formen. Um das Malariablut besser sterilisieren zu können, wäre es angebrachter, neue chemotherapeutische Präparate zu suchen; bis dahin ist es das beste, so lange Zeit als möglich in den angenehmsten Formen die am leichtesten verdaulichen Chininpräparate zu nehmen.

q) Die für die Praxis immer wichtigeren Nachforschungen, ein nicht bitteres Chinin zu finden, haben zur Zubereitung des Äthylkarbonats (Euchinin) und des Dichininkarbonats (Acistochrina) geführt. Dies taugt weniger als jenes, und beide weniger als das Tannat, besonders auch deshalb, weil sie immer einen bitteren Geschmack behalten, und es sehr schwierig ist, sie in angenehmerer Form als (Schokoladenpastillen oder ähnlich) zuzubereiten.

Die kolloidale Zusammensetzung der Gerbsäure und des Chinins, das sog. Chinintannat, ist für an Magen- und Darmkatarrhen Leidende am homogensten und ist das am wenigsten toxische aller Chininsalze auch in den Fällen von Hämoglobinurie.

Besonders als Schokoladenpastillen ist Tannat bei Kindern zu verwenden, die noch zu klein sind, um Pillen schlucken zu können und sich außerdem vor dem bitteren Geschmack ekeln, ferner bei allen denjenigen, die an Magen- und Darmkatarrhen leiden, oder die aus Idiosynkrasie kein anderes Chininsalz vertragen.

Leider werden Chinin sulf. und Ch. bisulf. noch zu viel gebraucht. Die Schwefelsäure trennt sich im Magen und Darm vom Alkaloid und wirkt irritierend auf die Schleimhäute.

Chinin muriat. und Ch. bimuriat. sind entschieden die besten Chininsalze. Hydrochinin ist nicht wirksam, auch für subkutane Einspritzungen ist Chinin mur. mit Äthyluretan (Gaglo, Siemsa) vorzuziehen.

Da wir so den Wert und die Wirkung dieses großartigen Heilmittels besser kennen lernten, es besser beurteilen und die Schädlichkeiten beseitigen konnten, konnten wir von 1900 an in der Cervelletta und nach und nach auch in den anderen Untersuchungsstationen es weit nützlicher anwenden, als je vorher.

Durch immer neue Versuche kamen wir zur Überzeugung, daß nicht durch die alleinige Behandlung der fiebernden und rezidivierenden Malariakranken, wie Koch behauptete, die Malaria aus einem ausgedehnten infizierten Gebiete ausgerottet werden kann.

Da ein leichtes und rasches Mittel zur Diagnose der latenten Infektion fehlt, entgehen viele Infektionsträger.

Da ein leichtes und sicheres Mittel zur inneren Sterilisation fehlt, dauern die Rezidive hartnäckig fort.

Daher gelang es nicht, trotz genauer Behandlung der Fieberkranken auch im Winter und Frühling, den Ausbruch der neuen Epidemie im folgenden Sommer und Herbst zu verhindern.

Nützlicher und leichter war der Chiningebrauch um dem Fieber vorzubeugen, als um es zu heilen. Nochmals bewährte sich das alte Wort: „besser der Krankheit vorbeugen, als sie zu heilen".



Die tägliche Chininisierung aller Bewohner der Cervelletta bewahrte die Gesunden vor dem Fieber und heilte allmählich, durch längeren und größeren Gebrauch, die Malariakranken.

Mit diesem einfachen, unschädlichen, angenehmen und billigen Mittel (d. h. zwei Chinintabletten täglich [40 cg] für die Erwachsenen, eine Chinintablette für die größeren Kinder und eine Schokoladenpastille für die kleineren Kinder den Sommer und Herbst hindurch) begann sich die gesundheitliche Lage der Cervelletta zu verbessern.

Die Bauern lebten aber ruhig weiter in ihren Strohhütten; die hydraulischen Meliorationsarbeiten waren erst zur Hälfte gediehen und hatten, trotzdem sie ausgezeichnet ausgeführt waren, die Anophelinen nicht vertilgt; die Berieselungswerke förderten, wie sie dies noch heutzutage tun, deren Entwicklung. Die einzige neu hinzutretende Tatsache, die den Menschen der Cervelletta hatte gesunden lassen und gesund erhielt, war der tägliche, regelmäßige Chiningebrauch in den Monaten, in denen früher das Fieber herrschte. Auf diese Weise wurden die von den Stechmücken ins Blut geimpften Parasiten aufs rascheste zerstört.

Die Cervelletta machte in der römischen Campagna Schule; Professor Gualdi und die römischen Armenärzte, Professor Postemspski und die Ärzte vom Roten Kreuz machten ebenfalls Versuche mit der vorbeugenden Behandlung, die sie dann mehr als die kurative in der römischen Campagna anwenden ließen und anwandten.

Von den Experimenten der Cervelletta und der römischen Campagna ist die ganze Neuorganisation der Malariabekämpfung ausgegangen, die von Italien aus sich über so viele Teile der malarischen Welt verbreitet hat.

IV. Besondere Gesetzgebung gegen die Malaria.

Gesetze vom Staatschinin.

Sie sind von mir und meinen parlamentarischen Kollegen und Mitgliedern der Malariagesellschaft (Fortunato, Franchetti, Guicciardini, De Asarta und Wollemborg) eingegeben worden.

Es sind fünf und zwar:

a) Gesetz vom 23. Dezember 1900. Darin wird kein Monopol aber ein Staatsdienst festgestellt.

Die Militärapotheke in Turin stellt reines und gut zubereitetes Chinin in Tabletten und in Phiolen zu subkutanen Einspritzungen her. In verschiedenen Apotheken und in jedem Winkel unseres Landes, in den Verschlägen der Salz- und Tabakregie wird das Chinin möglichst billig verkauft. Der Reingewinn, der immer bei solchen Unternehmungen vorhanden



ist, dient dazu, den Preis bei eventuellen Schwankungen auf dem Weltmarkte trotzdem niedrig zu erhalten, und zu Prämien und Unterstützungen für Gemeinden, Wohlfahrtseinrichtungen und Ärzte, die die Malaria bekämpfen.

b) Gesetz vom 2. November 1901. Danach müssen alle Gemeindeärzte den Arbeitern und Bauern in Malariagegenden gratis reichlich Chinin auf Kosten der Arbeitgeber verabreichen, unter die die Kosten am Ende des Jahres verteilt werden.

c) Gesetz vom 22. Juni 1902. Nach diesem wird das Staatschinin allen Gemeinden, Wohlfahrtseinrichtungen und jedem, der es kostenlos den Arbeitern verabreichen will, mit einer Preisermäßigung gewährt.

d) Nach dem Gesetz vom 25. Februar 1904 haben die Armen das Recht, Chinin und alle anderen Medizinalien gratis von den Gemeinden oder Wohlfahrtseinrichtungen zu erhalten.

e) Nach dem letzten Gesetz vom 19. Mai 1904 haben die Armen in jedem Malariagebiet Recht auf kostenloses Chinin, auch als Vorbeugungsmittel, von der Gemeinde und dem Armenarzte, immer auf Kosten der Arbeitgeber.

Das Reglement vom 28. Februar 1907 hat die vorhergehenden gesetzlichen Bestimmungen noch vervollkommnet; die Malaria wird als Berufskrankheit angesehen und wird einem Unfall gleichgestellt. Die Pflicht des Arbeitgebers ist es daher, ihr vorzubeugen und das Chinin zu bezahlen, das zu dem einen wie zum anderen Zwecke die Gemeinden kostenlos jedem Arbeiter in Malariagegenden verabreichen müssen.

Die Verabreichung des Chinins ist zur staatlichen Funktion erhoben worden und nicht mehr ein Almosen, wie es früher war, sondern eine hygienische Kollektivmaßregel.

Die Chininsteuer ist eine charakteristische Anwendung des englischen Steuersystems, d. h. sie belastet nicht gleichmäßig alle Steuerzahler der Gemeinde, sondern nur die Grundbesitzer in Malariagegenden.

Diese bezahlen nicht nach Zahl der von ihnen beschäftigten Arbeiter, die niemand genau zählen könnte, sondern nach Ausdehnung ihrer in Malariagegenden befindlichen Besitzungen. Wenn sie ihr Land nicht bebauen, müssen sie so eine wenn auch leichte Strafe für die Vernachlässigung und die Nichtbebauung ihres Eigentums zahlen.

Ich will hier nicht auf all den Widerstand und auf all die Anfeindungen zurückkommen, auf die ich traf, um praktisch die hier angeführten Gesetze ausführen zu lassen.

Ich will hier nur den Erfolg auf die Malariasterblichkeit und die Malariaerkrankungen in Italien erwähnen.



V. Staatschinin und Malariasterblichkeit.

In Tabelle I wird der Staatschininverbrauch von 1902 an mit der Malariasterblichkeit von 1900 bis heute verglichen.

Tabelle I.
Staatschinin und Malariasterblichkeit in Italien.

Staatschininverbrauch		Reingewinn in Lire	Malariasterblichkeit	
Finanzjahr	verkaufte kg		Jahrgang	Todesfälle
			1900	15865
			1901	13558
1902—1903	2 242	34 000	*1902*	9908
1903—1904	7 234	183 038	*1903*	8513
1904—1905	14 071	183 282	*1904*	8501
1905—1906	18 712	296 295	*1905*	7838
1906—1907	20 723	462 280	*1906*	4871
1907—1908	24 351	700 062	*1907*	4160
1908—1909	23 635	769 809[1]	*1908*	3463
1909—1910	21 656	704 000[1]	*1909*	3533
1910—1911	22 795	843 312[1]	*1910*	3619

[1] Auch der Reingewinn des nach dem Ausland exportierten Chinins ist mit inbegriffen.

Wenn man die Ziffern von Kolonne 2 mit denen von Kolonne 5 vergleicht, sieht man sofort, daß von 1902 bis 1908, als der Staatschininverbrauch andauernd zunahm, die Malariasterblichkeit immer mehr abnahm. Von 1908 bis 1912 blieb der Chininverbrauch gleich, und gleichzeitig hielt sich die jährliche Sterblichkeitsziffer immer gleich auf etwa 3500 Todesfälle im Jahre; im allgemeinen war sie $^4/_5$ weniger als 1900 und $^2/_3$ weniger als 1902, als die neue staatliche Einrichtung eingeführt wurde.

Es sei noch bemerkt, daß die Privatindustrie nach wie vor die gleiche Menge Chinin importierte und verkaufte, das Staatschinin kam also all den Armen zu gute, die es bis dahin nicht kaufen konnten und deshalb an Malaria starben.

Ich will noch hinzufügen, daß von 1887 bis 1900 die Malariasterblichkeit in Italien schon eine leichte Neigung zur Abnahme hatte, die aber von Latium südwärts, wo die Epidemie am häufigsten auftrat, alle 5 bis 6 Jahre von einer periodischen Steigerung unterbrochen wurde; das Staatschinin hat auch dies verhindert.

Wenn man außerdem den günstigeren Verlauf der Malaria in den verschiedenen Teilen Italiens genau verfolgt und den Verlauf der Malariasterblichkeit von Latium abwärts im Verhältnis vergleicht, so sieht man, daß man von 1887 bis 1900 in Basilicata, Sardinien, Sizilien, Apulien, Kalabrien oder Latium gar nicht oder sehr wenig von der spontanen



Abnahme durch die periodischen Schwankungen gemerkt hatte. Von 1900 an sank in allen Teilen Italiens die Malariasterblichkeit, aber hauptsächlich in den verseuchtesten und am hartnäckigsten von der Malaria heimgesuchten Provinzen. In der Basilicata und Sardinien war dies ganz besonders auffallend, wo niemand behaupten kann, daß besser gelungene Meliorationsarbeiten oder bessere ökonomische Verhältnisse die Ursache waren.

Es ist also zweifellos, daß der immer größere und hartnäckigere Abfall der Malariasterblichkeit in Italien von 1902 an hauptsächlich dem Mehrverbrauch des Staatschinins zuzuschreiben ist.

Alles läßt darauf schließen, daß, wenn man mit vereinten Kräften (quod est in votis) den Verbrauch und die Art des Verbrauches des Staatschinins zu vermehren und zu verbessern suchen wird, auch die Zahl der Opfer des Fiebers noch erheblich abnehmen wird.

VI. Staatschinin und Malariaerkrankungen.

Mit dem spezifischen Heilmittel, das von Rechts wegen jedermann zur Disposition steht, heißt es wollen, um nur ausnahmsweise und auch dann nur leicht an Malaria zu erkranken.

Natürlich muß das Chinin der Virulenz und der Verbreitungsfähigkeit der Malaria angepaßt werden; nach den oben erwähnten Epidemiezonen (schwere oder mittlere) muß die Chininprophylaxis entweder auf alle Einwohner verallgemeinert werden oder sich nur auf die infizierten Familien beschränken; die tägliche Dosis kann gleichfalls von 60 bis 40^{cg} (Chinin bisulf. tann. mur.) auf 20^{cg} verringert werden; Kindern die Hälfte.

Die Chininprophylaxis beschränkt die frischen Infektionen auf ein Minimum und vermindert auch die Rezidive. Wenn sie auch manchmal nicht den Ausbruch des Fiebers verhindert, vermehrt sie doch nicht die Widerstandsfähigkeit der Plasmodien für therapeutische Dosen, mit denen das Fieber leicht abgeschnitten werden kann.

Wo die Malaria sehr leicht auftritt, ist die Prophylaxis überflüssig, da genügt eine lang dauernde Behandlung.

Zweifel, Argwohn, Mißbrauch habe ich in Italien bekämpfen müssen. Aber heutzutage wird die Chininprophylaxis nicht nur in den zivilisierten Ländern (Dalmatien, Istrien, Griechenland, Bulgarien, Kreta, Argentinien, Brasilien), sondern auch in den französischen, holländischen, englischen und deutschen Kolonien als die sicherste Waffe bei der Malariabekämpfung benutzt.

Ich führe hier nur einige der greifbarsten Tatsachen an. Zuerst will ich über die Malaria bei dem Teile der Bevölkerung berichten, der beständig unter ärztlicher Aufsicht steht, d. h. das Heer und die Marine, vor und nach der Chininprophylaxis.



Tabelle II.

Die Malaria in der Armee.

Jahr	Durchschnittlicher Truppenbestand	Am Fieber erkrankten ‰	Rezidive ‰	Neuerkrankungen ‰	Bemerkungen
1901	189 848	49·94	—	—	—
1902	199 253	36·42	—	—	—
1903	206 468	24·14	17·85	6·28	Beginn der Chininprophylaxis.
1904	210 637	19·21	12·71	6·49	Die Chininprophylaxis wird fortgesetzt.
1905[1]	204 745	23·00	13·90	9·05	
1906	211 718	18·94	12·66	6·30	Die Chininprophylaxis wird noch mehr ausgedehnt.
1907	202 320	12·46	7·76	4·50	Desgl.
1908	216 679	0·04	5·19	2·85	„
1909	228 951	6·96	4·72	2·24	„
1910	234 104	5·10	3·23	1·87	„
1911	231 517	4·90	3·04	1·85	„

[1] Periodische Epidemiezunahme.

Tabelle III.

Die Malaria im Marinekrankenhause zu Tarent.

Jahr	Neue Fälle im ganzen	Prozent der Mannschaft	Bemerkungen
1900	193	20·19	–
1901	130	13·19	—
1902	35	14·64	—
1903	81	8·38	Beginn der Chininprophylaxis
1904	89	9·65	„ „ „
1905[1]	103	10·09	Allgemeine „
1906	72	7·00	„ „
1907	74	6·75	„ „
1908	46	3·68	„ „
1909	23	1·25	„ „
1910	13	0·75	„ „
1911	21	0·96	„ „

[1] Periodische Epidemiezunahme.

Aus Tabelle II und III geht hervor, daß unsere Land- und Seestreitkräfte, nachdem die Chininprophylaxis verallgemeinert worden ist, nur noch wenig unter der Malaria zu leiden haben.



Unter den Arbeitern des Riesenunternehmens der apulischen Wasserleitung sind Malariafälle eine Ausnahme, während früher in Malariagegenden jede öffentliche Arbeit (Melioration usw.) in den Sommermonaten unterbrochen werden mußte, daher Verspätung und Beschädigung der Werke selbst während der ganzen unterbrochenen Zeit. Heute ist die Chininprophylaxis nicht nur ein gutes Werk für die Arbeiter, sondern auch ein gutes Geschäft für die Arbeitgeber, deshalb ist sie besonders für Unternehmer öffentlicher Arbeiten in den Kontrakten obligatorisch.

Auch unter den Bergleuten Grossetos, Sardiniens und Siziliens, wo mehr denn je die Malaria wütete, ist die Zahl der Befallenen nach der Chininisation von 1·3 Prozent auf 0·67 Prozent gesunken.

Unter der Landbevölkerung sind leider, besonders anfangs, viel Apathie und Vorurteile zu bekämpfen.

In jedem gut organisierten landwirtschaftlichen Betriebe müssen ein oder mehrere Vertrauensmänner damit beauftragt werden, Chinin unter Oberaufsicht des Arztes allen Arbeitern täglich den ganzen Sommer hindurch, bis die Hitze im Herbst aufhört, zu verteilen. Es muß genau Stunde und Ort festgesetzt werden, wo die Chininverteilung erfolgt, und der Aufseher muß sich davon überzeugen, daß das Chinin wirklich hinuntergeschluckt wird.

So haben wir es in der Cervelletta gemacht, und so ist es auf den anderen Gütern in der römischen Campagna Brauch geworden, und von hier aus in Nord- und Süditalien.

Für Norditalien führe ich die Güter Stuchy von Villanova Portogruaro und Pontis im Unteren Veronaischen an, die wahre Oasen wurden und blieben, trotzdem ringsherum die periodische Epidemiezunahme wieder stattfand.

Im Süden führe ich das Beispiel des Gutes Rizzolo in der Gemeinde Francofonte (Sizilien) an. Seit 30 Jahren sind dort großartige Anpflanzungen unternommen worden. Getreide wird gebaut, Weinberge, Ölberge sind angelegt worden, Orangen- und Zitronenbäume, Maulbeerbäume, Mandelbäume gepflanzt. Häuser mit allen hygienischen Maßregeln sind gebaut und mit Drahtnetzen zum Schutz vor den Stechmücken versehen worden; letztere sind, wie gewöhnlich, wegen der Nachlässigkeit der Bauern zwecklos geworden; an den Betten waren Netze angebracht worden, und die Wasserbehälter wurden mit Petroleum übergossen. Trotz der Bodenmelioration und der hygienischen Maßregeln dauerte die Malariainfektion unentwegt fort, bis in den letzten Jahren durch regelmäßige Chininisierung aller gesunden und kranken Bauern eine neue Epoche der Gesundheit eingetreten zu sein scheint.

Dies und andere Beispiele, die ich anführen könnte, beweisen zur Genüge, daß die best ausgeführten hydraulischen und agrarischen



Meliorationen weit entfernt sind, die Malaria auszurotten; diese zerstört tatt dessen bei dem stärkeren Auftreten, wie wir es hier in der römischen Campagna gesehen haben, die besten Ansiedelungen.

Um nochmals die Wirksamkeit der Chininprophylaxis zu beweisen, die die Bauern auch an Orten und zu Zeiten schwerster Malaria gesund erhält, führe ich hier einen Gegenbeweis an, den uns die Strafkolonie Castiadas in Sardinien bietet.

Von 1907 bis 1909 wurden die Leute mit meiner täglichen prophylaktischen Methode behandelt; jeder Strafkolonist und jeder Aufseher erhielt täglich zwei Chinintabletten.

Tabelle IV beweist, daß von 1904 bis 1906, vor der Chininprophylaxis, die Malaria 48 bis 92 Prozent der Bewohner befiel, obgleich ausgezeichnete Meliorationsarbeiten ausgeführt worden waren; nach der Ross-schen Theorie waren alle Behausungen vor dem Eindringen der Stechmücken geschützt worden, und die Chininbehandlung und Behandlung mit anderen Mitteln wurde allen Fieberkranken zu teil. Nur der Chininprophylaxis gelang es, die Malariaerkrankungen von 48 Prozent 1906 auf 9 Prozent 1909 sinken zu lassen.

1910 wurde auf Rat einiger unserer Kliniker und Pathologen im Winter und Frühjahr die sog. „menschliche Sanierung" angewandt, d. h. die genaue Behandlung jedes einzelnen Malariakranken. In der Hoffnung, so die Malaria vertilgt zu haben, wurde im folgenden Sommer und Herbst die Chininprophylaxis nicht angewandt. Sofort stieg die Zahl der Malariakranken auf 19 Prozent.

Nach dieser schlechten Erfahrung wurde 1911 wieder meine Chininprophylaxis gebraucht, und trotzdem ringsherum die epidemische Zunahme eingetreten war, sank die Zahl der Malariakranken auf 6 Prozent.

Tabelle IV.
Die Malaria in der Strafkolonie Castiadas.

Jahr	Zahl der Bewohner	Verbrauch des Staatschinins kg	Malariafälle	Bemerkungen
1904	748	—	694 (92 %)	Es wurde noch kein prophylaktisches Chinin verabreicht.
1905	861	13 674	731 (84 %)	Desgl.
1906	807	15 080	390 (48 %)	„
1907	795	40 230	132 (16 %)	„
1908	700	36 400	97 (13 %)	Chininprophylaxis.
1909	631	32 000	64 (9 %)	„
1910	655	15 230	139 (19 %)	Nur Chininbehandlung.
1911	540	25 360	37 (6 %)	Chininprophylaxis.



Es genügt also bei jedem landwirtschaftlichen Unternehmen, bei jedem Ansiedelungsversuche in Malariagebieten die allgemeine Chininprophylaxis aller Einwohner in den Sommer- und Herbstmonaten, um die Arbeiter vor dem Fieber zu bewahren.

Die Chininprophylaxis wird von Jahr zu Jahr wirksamer, nicht nur in abgegrenzten und begrenzten Gütern, sondern auch hauptsächlich in ausgedehnten von Malaria heimgesuchten Gegenden mit zahlreicher Bevölkerung. Um dies zu beweisen, könnte ich eine große Anzahl Beispiele von durch tüchtige Ärzte in vielen Gemeinden Italiens vollbrachten Verbesserungen der gesundheitlichen Lage besonders von Latium südwärts und auf den Inseln anführen.

Ich beschränke mich hier darauf, über die Malariaerkrankungen hier in der römischen Campagna zu berichten, nachdem Armenärzte und Rote-Kreuz-Ärzte so viel als möglich Chinin zu vorbeugenden, mehr noch als zu kurativen Zwecken austeilten.

Tabelle V.

Chininprophylaxis in der römischen Campagna.

	1900	1901	1902	1903	1904	1905
Prophylaktisch Behandelte	79	1176	3853	17 506	29 693	38 429
Frische Infektionen (vom Roten Kreuz behandelt)	1716 (17 %)	1263 (16 %)	764 (7 %)	320 (2 %)	162 (1·34 %)	250 (1·52 %)
Malariakranke (vom Roten Kreuz behandelt) . . .	3751 (31 %)	2366 (26 %)	2581 (20 %)	1547 (11 %)	1406 (10 %)	839 (5·1 %)
Malariakranke in den römischen Krankenhäusern aufgenommen	6186	4725	2750	2461	2991	3991[1]

(Fortsetzung.)

	1906	1907	1908	1909	1910	1911
Prophylaktisch Behandelte	41 072	34 927	33 803	35 790	40 973	47 252
Frische Infektionen (vom Roten Kreuz behandelt)	129 (0·77 %)	166 (1·44 %)	127 (1·42 %)	201 (1·70 %)	187 (2·2 %)	265 (2·8 %)
Malariakranke (vom Roten Kreuz behandelt) . . .	576 (3·4 %)	3713 (3·2 %)	437 (2·0 %)	470 (4·2 %)	425 (4·3 %)	628 (5·6 %)
Malariakranke in den römischen Krankenhäusern aufgenommen	2513	2486	2748	2417	1775	2170

[1] Periodische Epidemiezunahme.



Wer die römische Campagna nicht kennt, kann sich keinen Begriff von den Schwierigkeiten machen, die überwunden werden mußten und die noch zu überwinden sind. Der Bauer ist hier apathisch, voller Vorurteile, führt ein Nomadenleben, mal hier, mal dort, bei schlechten Arbeitsverhältnissen, elender Kleidung, Wohnung und ungenügender Nahrung. Der Arzt und der Wärter müssen sich zu Pferde oder im Wagen durch öde Landstriche, über schlechte endlose Straßen begeben, um die Kranken aufzutreiben.

Trotzdem sank, wie Tabelle V beweist, seit 1903, als die Chininprophylaxis so viel als möglich angewendet wurde, die Zahl der frischen Malariainfektionen von 19 Prozent auf 2 Prozent und auch auf 1 Prozent.

Gleichzeitig sank die Gesamtzahl der behandelten Malariakranken von 20 Prozent auf 4·3 Prozent und auf 2 Prozent.

Andererseits sank die Zahl der in den römischen Krankenhäusern aufgenommenen Kranken von 6194 1900 und 4275 1901 auf etwa 2000 und 1910 auf 1775. Einer so geringen Anzahl Malariakranke erinnert man sich seit Menschengedenken nicht.

Die einfache Chininverbreitung, sagen wir mal die Überschwemmung mit Chinin, hat unsere Campagna von der jahrhundertelangen Plage der Malaria befreit und ist im Begriff, sie zu befreien.

VII. Gesetze zur hydraulischen Melioration.

Die Sümpfe riefen Malaria hervor, und um diese auszurotten, müssen jene ausgetrocknet werden. Seit Jahrhunderten wurde dies geglaubt und danach gehandelt. Die einzige Hoffnung, des Fiebers Herr zu werden, war die hydraulische Melioration, und im Interesse der öffentlichen Gesundheit scheute man keine Ausgabe.

Mit gutem Beispiel waren die präromanischen Völker und die Römer vorangegangen. Während der Renaissance und noch mehr vor und nach der napoleonischen Zeit unternahmen die Regierungen der Lombardei, Venedigs, Toskanas und selbst die rückständigsten des Kirchenstaates und der Bourbonen großartige Meliorationsarbeiten, in denen unsere Hydrauliker den urkundlichen Überlieferungen Leonardos und Galileis folgten. 1882 gab es aber noch auf 28 658 900 Hektar nationalem Boden 287000 Hektar Sumpfland. Für hydraulische Meliorationsarbeiten waren von 1862 bis 1900 etwa 118 Mill. Lire ausgegeben worden, von 1900 bis 1912 wurden noch 148 Mill. Lire ausgegeben, also zusammen 266 Mill., 237 sind bereits ausgeworfen und noch 150 Mill. durch ein kürzlich von der Kammer angenommenes Gesetz.



Aber in all den vielen Jahren und mit so vielen für Meliorationszwecke ausgegebenen Millionen ist nur in geringem Maße der sanitäre Erfolg zu verzeichnen gewesen, den wir in 10 Jahren mit verschiedenen tausend Franken Gewinn den Gesetzen vom Staatschinin zu verdanken haben.

Heute können wir den Grund der Mißerfolge begreifen: kein Mittel und kein System der hydraulischen Assanierung vertilgt ohne weiteres bestimmt alle Stechmücken. Das schlechte Instandhalten der Kanäle allein genügt, um eine üppige Sumpfvegetation und die Anophelinennester zu erhalten.

Noch schlimmer war es, daß man trotz des Gedankens, den Boden zu sanieren, häufig, von den Maremmen abwärts, nicht an den landwirtschaftlichen, ökonomischen Nutzen dachte, so daß ganze hydraulisch meliorierte Landstriche noch ungastliche Latifundien geblieben sind.

Heute haben die neuen Entdeckungen in bezug auf die Malaria auch die Gesetze und die Ausführung der hydraulischen Melioration verbessert. Das Gesetz vom 7. Juli 1902 bezeichnet für die römische Campagna als Meliorationsarbeiten zweiter Klasse die kleinen Meliorationsarbeiten, die für hygienische und landwirtschaftliche Zwecke unumgänglich notwendig sind (Drainage, Anschüttungen, Eröffnung und Anlage von Kanälen). Zu dem Zwecke werden vom Staat (Regierung, Provinz, Gemeinde) 30 Prozent der Kosten vergütet.

Das Gesetz vom 19. Juli 1911 koordiniert die Meliorationsarbeiten in der Ebene mit den hydraulischen auf den Bergen und den Waldanpflanzungen; außerdem sind außer neuen Straßen auch die Anlagen für Trinkwasser und Berieselungszwecke in den hydraulischen Arbeiten mit inbegriffen.

Auf diese Weise dient die hydraulische Melioration nicht nur für sich, ist nicht nur ein Traum hygienischer Assanierung, die man heutzutage mit der Chininprophylaxis und mit vor Stechmücken geschützten Häusern leichter erreichen kann: die hydraulische Melioration ist der erste Schritt zur landwirtschaftlichen Melioration, die für die Grundbesitzer obligatorisch wird.

Eine besonders dazu ernannte Kommission ist damit beauftragt worden, ein neues organisches Gesetz vorzubereiten, um den meisten sei es landwirtschaftlichen, sei es ökonomischen Nutzen aus den zu meliorisierenden Gebieten zu gewinnen. Die Arbeiten des Hygienikers, des Hydraulikers, des Landwirts sollen zum hygienischen und finanziellen Vorteil koordiniert werden.



Diese drei, vereint mit den Lehrern, die die Bauern nicht nur das ABC lehren, sondern ihnen auch Begriffe von der modernen Landwirtschaft geben, haben sich, von der Cervelletta ausgehend, hier schon in der römischen Campagna vereint zur Bebauung und zum Aufblühen der von der Malaria verödeten Landstrecken.

Daher kamen

VIII. die Agrarischen Meliorations- und Ansiedelungsgesetze

heraus.

Das Bonifikationsgesetz der römischen Campagna 1883 kam zu einer Zeit heraus, als die Malaria die schlimmsten Verheerungen unter Menschen und Vieh anrichtete, und man noch nicht wußte, wie man sie zu bekämpfen hatte. Da außerdem die Grundbesitzer keinen direkten Vorteil davon hatten, blieb das Gesetz ohne jedweden Erfolg.

Das Gesetz vom 13. Dezember 1903 ist nach den Erfahrungen aufgestellt worden, die in der Cervelletta im unteren Aniotal, sei es zur hygienischen Verteidigung des Menschen und des Viehes, sei es zur hydraulischen und landwirtschaftlichen Melioration gemacht worden sind.

Die Einrichtung von Sanitätsstationen und Schulen auf dem Lande vervollkommnete das Gesetz, das vom landwirtschaftlichen und hydraulischen Standpunkt den Besitzern und Pächtern Vorteile verspricht.

a) Der Staat bezahlt 30 Prozent der Kosten für die kleinen hydraulischen Meliorationsarbeiten, die aus hygienischen und landwirtschaftlichen Gründen vorgenommen werden müssen. (Artikel 31, zusammengefaßte Gesetze, 10. November 1905.)

b) Darlehen zu $2^1/_2$ Prozent, die in 45 Jahren zu tilgen sind (Artikel 28), werden zum Häuser- und Ställebau für Intensivkulturen und Baumschulen vorgestreckt.

c) Grundsteuer und Viehsteuer werden auf 15 Jahre (Artikel 21 bis 22) erlassen.

Andrerseits (Artikel 10) hat die Regierung das Recht, die Grundstücke, deren Besitzer die vorgeschriebenen Meliorationsarbeiten nicht ausführen, zu enteignen.

Die Maßregel brauchte aber nie ergriffen zu werden, was der beste Beweis von der Güte des Gesetzes von 1903 ist.

Durch ein neues Gesetz vom 17. Juli 1910 wurden diese Bestimmungen noch jenseits des Gürtels von 10 km und des Aniotals auf die ganze römische Campagna ausgedehnt; Erleichterungen wurden geschaffen, damit auf dem Lande Dörfer entstehen können; eine Ansiedelungskasse



ist gegründet worden, um durch Prämien und Unterstützungen private und Kollektivtätigkeit anzuregen, die dazu bestimmt sind, auf die verschiedenste Art die Aufgabe des Aufblühens der römischen Campagna zu lösen.

Ein zootechnisches Institut in Latium ist eröffnet worden, um die Ursachen der Tierseuchen, die seit Jahrhunderten ungestört Verheerungen anrichten, zu erforschen und um vorbeugende Maßregeln und Behandlungsmethoden vorzuschlagen.

So ersteht die römische Campagna im Laufe der Jahrhunderte zum fünften Male zu neuer Blütezeit, die von der durch die Wissenschaft und ärztliche Kunst besiegten Malaria nicht wieder gestört werden wird.

Das dritte Italien kann daher in vielen Teilen nationaler Erde Gesundheit und Reichtum schaffen.

Die Eroberung der neuen Kolonialgebiete wird nicht vergessen lassen, daß durch festes Wollen die traurige Erbschaft der Geschichte und des Klimas im Vaterlande vernichtet werden muß.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. C. Flügge.)

Zur bakteriologischen Wasseruntersuchung.

I. Mitteilung.

Der Nachweis von Bakterien durch das Berkefeldfilter.

Von

Prof. **M. Ficker.**

Der Gedanke, die Bakterien aus einer Suspension durch Abfiltrieren zu gewinnen und sie damit der näheren Prüfung zugänglicher zu machen, hat schon mehrere Forscher beschäftigt. Nahegelegt wurde dieser Gedanke einmal durch das im großen und ganzen grundsätzlich gleiche Vorgehen des Chemikers, der feinste Niederschläge auf dem Filter sammelt, um sie dann quantitativ und qualitativ zu untersuchen, ferner durch die Beobachtungen an natürlichen und künstlichen Filtern, nach denen die für die Zurückhaltung der Mikroorganismen maßgebenden Schichten eines Filters die oberflächlichen sind, so daß nun die Aufgabe bestand, die abgefangenen Bakterien aus diesen Filterschichten bei starren Filtern zu entfernen oder bei nichtstarren Filtern das Filtermaterial mit den zurückgehaltenen Bakterien auf Nährböden zur Aussaat zu bringen, ähnlich wie man es bei bakteriologischen Luftuntersuchungen mittels Sand- oder Glaskörnchen tut.

Als Filter sind benutzt worden: Chamberland-, Berkefeld- und Sandfilter. Die bekannt gegebenen Methoden sollten den Nachweis von Typhusbazillen im Wasser (Klein, Chantemesse: Berkefeld- und Chamberlandfilter) oder von Protozoen (Jackson: Sandfilter) oder von Tuberkelbazillen im homogenisierten Sputum (Nebel: Maßenkerze) erleichtern. Anzureihen wären hier auch die Methoden, bei denen nach vorheriger Fällung mit chemischen Mitteln (z. B. Eisensalzen) ein Abfiltrieren des



Niederschlages und Flüssigkeitsrestes erfolgte: bei dieser Filtration kommt dem Niederschlag, der den Filter überkleidet, ebenfalls eine filtrierende Wirkung zu (Müller, Nieter).

Der erste, der die Abfiltration von Keimen zum Zwecke ihres Nachweises benutzte, ist E. Klein gewesen: er leitete 1500 bis 2500^{ccm} typhusverdächtigen Wassers durch Berkefeldfilter, schabte die Bakterien mit einer sterilen weichen Bürste von der Filteroberfläche, die seiner Meinung nach den größten Teil der Wasserbakterien enthielt, in 20^{ccm} sterilen Wassers ab und benutzte die Mischung zur Plattenkultur (Karbolgelatine), einen Teil auch zur Vorkultur (Bouillon). In 14 derart untersuchten Wässern fand er einmal den Typhusbacillus.

Chantemesse filtrierte 6 Liter Wasser durch Chamberland-Pasteur-Filter; er nahm an, daß alle Bakterien an der äußeren Oberfläche zurückgehalten würden, wusch das Filter mit 200^{ccm} 3 prozent. Peptonwassers ab, das nun bebrütet und nach bestimmten Gesichtspunkten (Lüftung, Ersatz der Nährflüssigkeit durch neue nach Absaugung durch Kerzen, Zentrifugieren, Aufbringen auf Karbolpeptonagar) weiterverarbeitet wurde. Die Mitteilung von Chantemesse, mit dieser Methode in jedem Falle im Seinewasser Typhusbazillen gefunden zu haben, ist starkem Zweifel begegnet.

Die genannten Verfahren haben sich keinen Eingang in die Laboratorien zu schaffen vermocht. Dazu hat wohl wesentlich die Unzuverlässigkeit der im Handel befindlichen Filtersorten beigetragen. Erst als durch eine neue Art der Einkittung (Innenkittung mit Gummiplattenverschluß) die Filter der Berkefeldgesellschaft, wie die Untersuchungen v. Wunschheims zeigten, vervollkommnet, und als die näheren Vorgänge des Filtrationsaktes bei diesem neuen Filtertyp durch eine Untersuchung P. Schmidts klargelegt worden waren, konnte das Verfahren von Klein wieder in Erinnerung gebracht werden: hatte P. Schmidt doch nachgewiesen, daß in der Tat die Bakterienfiltration „weniger durch physikalische Oberflächenadsorption als vielmehr durch direkte Verstopfung geschieht", und daß „die Verstopfung nur ganz an der Oberfläche der Filterkerze stattfindet". Nach Schmidt gelingt es, eine fast vollständige Reinigung der Kerzen auf mechanischem Wege durch rückläufige Spülung zu erreichen, ein Verfahren, das übrigens schon seit langem in verschiedenen Laboratorien gehandhabt wurde: wollte man nach Filtration eiweißhaltiger Medien (Serum o. dgl.) oder dichter Suspensionen die Filterkerzen reinigen, so schloß man sie an die Wasserleitung rückläufig an. (Hier sei übrigens bemerkt, daß die Berkefeldgesellschaft die Benutzung des Rückdruckes der Leitung zum Reinigen der Filterzylinder widerrät: die Filterkörper könnten wohl einen recht erheblichen äußeren Überdruck



aushalten, würden aber durch einen verhältnismäßig geringen inneren Überdruck zersprengt; die Anwendung eines höheren inneren Überdruckes als $^1/_2$ Atmosphäre sei unangebracht, bei 1 Atmosphäre sei jedenfalls größte Vorsicht geboten.)

Als dann P. Schmidt diese rückläufige Spülung zum Zweck der Reinigung mit einer Druckpumpe ausgeführt hatte, untersuchte E. Hesse, welche Quantitäten der aus einer Suspension abfiltrierten Keime durch rückläufige Spülung wieder zu gewinnen sind. Er fand, daß auf diesem Wege die auf der Kerzenoberfläche zurückgehaltenen Keime nahezu völlig entfernt werden können, und zwar erscheint die Hauptmenge der Keime schon mit 4 bis 5 Stößen der Druckpumpe. Auch bei sehr geringem Keimgehalt (unter 10 Keimen im Liter) bewährte sich die Methode, deren Anwendbarkeit für größere Volumina Wasser (10 Liter und mehr) durch eine automatische Vorrichtung erleichtert wurde. Hesse bevorzugte die Kerzen von 6^{cm} Länge und $2^1/_2{}^{cm}$ Durchmesser, empfahl aber auch größere Kerzentypen mit gesteigerter Leistungsfähigkeit. Er versprach sich außerordentlich günstige praktische Erfolge bei Untersuchung von Brunnen- und Nutzwasser auf ihren Keimgehalt überhaupt wie auch auf Anwesenheit pathogener Keime. Im Durchschnitt konnte Hesse zunächst 42 Prozent der in die zu filtrierende Flüssigkeit eingesäten Bakterien wieder nachweisen. — Äußerst störend für die Weiterverbreitung der Methode war die Ungleichheit der Kerzen: sie mußten auf ihre Brauchbarkeit geprüft und ständig kontrolliert werden. In einer zweiten Arbeit konnte darauf Hesse mitteilen, daß nach Zusatz von Kieselgurpulver zu dem zu filtrierenden Wasser auch schlechte Kerzen gute Ergebnisse lieferten, die Filtration konnte dabei selbst unter höherem Druck vorgenommen werden (Anschluß von Kerzen direkt an die Leitung). Ein weiterer Vorteil der Anwendung des Kieselgurpulvers ist nach Hesse, daß schon der erste Stoß mit der Druckpumpe bei der rückläufigen Spülung fast sämtliche Keime entfernt; der Gurbelag auf den Plattenoberflächen beeinträchtigte die Übersichtlichkeit nicht, es trat eine Steigerung des Prozentsatzes der wiedergefundenen Keime von 42 auf 91 Proz. ein. Schließlich hat Hesse in einer dritten Arbeit noch vorgeschlagen, die Kieselgur schon vor der Bakterienfiltration auf den Kerzen niederzuschlagen, indem man das Gurpulver in sterilem Wasser aufschwemmt, in den das Filter umgebenden Glaszylinder füllt und nun absaugt. Die Zahl der wiedergefundenen Keime konnte damit auf 95 bis 96 Prozent erhöht werden.

Diese außerordentlich günstigen Resultate Hesses mußten zu einer Nachprüfung auffordern. Ich begann damit unmittelbar nach Erscheinen der ersten Arbeit Hesses. Da diese dann durch zwei weitere Mitteilungen

Hesses überholt wurde, habe ich mich mit den neueren Modifikationen am eingehendsten beschäftigt. Die früheren Versuche (Filtration ohne Gurzusatz) sind insofern nicht völlig wertlos geworden, als sie Gelegenheit gaben, die Methodik zu üben. Denn, das mag vorausgeschickt werden, das Verfahren ist nicht ganz so leicht zu handhaben, wie man bei der Lektüre der Arbeiten Hesses, der ja über die Erfahrung außerordentlich zahlreicher Versuche verfügt, annehmen könnte. Man muß auf eine ganze Reihe von Schwierigkeiten gefaßt sein. Obwohl ich mich ganz nach den Vorschriften Hesses richtete, ergaben meine ersten Versuche mit der ursprünglichen Methode (Filtration ohne Zusatz von Pulver) ungenügende Resultate. Es wäre zwecklos, hier diese Versuche wiederzugeben oder Mittelzahlen für die wiedergefundenen Keimzahlen anzuführen: es sind Versuche dabei, die sicherlich wegen mangelnder Übung in der Versuchstechnik auszuschalten wären. So boten sich zunächst erhebliche Schwierigkeiten bei der Ablösung der abgefangenen Keime von dem Filter durch den Rückstoß der Druckpumpe. Es konnte durchaus nicht immer mit dem ersten oder zweiten Rückstoß der größere Teil der Keime abgedrückt werden, das gelang nur bei einigen Filtern. Die einzelnen Filter haben einen sehr verschiedenen Widerstand, man hat es infolgedessen nicht immer in der Hand, die Kraft und die Zeitdauer des Rückstoßes so zu wählen, daß eine gleichmäßige Ablösung erfolgt und vor allem, daß das geeignete Quantum Rückstoßflüssigkeit auf die Platten kommt. Hesse selbst ist dieser Schwierigkeit wegen zunächst wieder davon abgekommen, die Rückspülflüssigkeit auf Plattenoberflächen aufzubringen, er gab sie vielmehr in der Menge von 10^{ccm} in Tropfgläser und verarbeitete nun einen Teil der Mischung auf Platten. Als ich dann trotz weiterer Einübung sehr schwankende Keimzahlen wiederfand, habe ich mich nicht lediglich auf Nachprüfung der Vorschriften Hesses beschränkt, sondern bin einzelnen Faktoren, die etwa die Resultate beeinflussen konnten, näher nachgegangen. Hesse hat die wichtigsten Bedenken gegen diese ursprüngliche Methode (Filtration ohne Gurzusatz) in seiner zweiten Arbeit selbst ausführlich geltend gemacht: es werden durchaus nicht immer bei der Filtration durch das empfohlene Filter die Bakterien nur an der Oberfläche des Filters festgehalten, sondern sie können, je nach der Beschaffenheit des Filters, auch in die tieferen Partien eindringen und dann der rückläufigen Spülung standhalten. Man mußte deshalb jede Kerze ausprobieren und die brauchbaren ständig kontrollieren. Damit war aber auch noch keine Sicherheit für die Methodik gegeben; denn erweist sich in einem voraufgehenden Kontrollversuche eine Kerze als noch brauchbar, so kann sie bei dem nachfolgenden Versuche durch die Manipulationen des Reinigens, Rückspülens und Sterilisierens minderwertiger geworden sein.

Es ist das Verdienst des Direktors der Berkefeldgesellschaft Endler, hier auf einen gangbaren Weg verwiesen zu haben. Schon in den 90er Jahren hat die Firma die Anwendung von Hilfsfilterschichten aus gepulverter Kieselgur zum Patent angemeldet. Die Verwendung des Gurpulvers[1] dient auch heute noch zur leichteren Reinigung der Filterkerzen; nach jeder Reinigung der Filtertöpfe FT und TA wird zur Erleichterung der Arbeit und zur Schonung der Filterkörper das Einschütten einer Aufschwemmung von reiner Kieselgurerde in den Topf empfohlen, die sich auf dem Filterkörper niederschlägt und selbst filtrierend wirkt. Die gleiche Methode ist auch schon in der Arbeit Plagges „Untersuchungen über Wasserfilter" erwähnt; bei der Beschreibung des Filters „Chamberland à nettoyer mécanique, O. André" wird zur Verhütung des Festklebens von Schmutzteilchen ein aus feinem Kieselgurpulver bestehendes sogen. poudre d'entretien empfohlen, das bei Neubeschickung des Apparates in Wasser aufgeschwemmt und eingefüllt werden soll; es lagere sich beim Anlassen auf den Kerzen ab, halte den großen Schmutz zurück und sei leicht bei der nächsten Reinigung zu entfernen, da es den Kerzen nur locker anhafte.

Wie bei Hesse so sind auch bei mir nach Zusatz des Kieselgurpulvers zu der zu filtrierenden Keimsuspension die Resultate besser geworden, besonders gilt das dann für die wertvolle Modifikation Hesses, das Gurpulver vor der Bakterienfiltration schon auf dem Filter niederzuschlagen.

Ich gebe zunächst eine Übersicht über Versuche, die lediglich der Frage der quantitativen Leistungsfähigkeit der Methode galten, weitere Versuche finden sich unten; sie dienten noch anderen Fragestellungen.

I. Versuche mit Kieselgurmischung.

Die geschlämmte Kieselgur war in Reagensgläsern in abgewogenen Mengen ($0 \cdot 1^{grm}$) bei 150^0 1 Stunde lang trocken sterilisiert worden. Sie wurden zur gleichmäßigen Verteilung mit 50^{ccm} sterilisiertem Leitungswasser aufgekocht und nach dem Erkalten des Wassers mit diesem zu 950^{ccm} sterilisiertem Leitungswasser zugesetzt. Die Mischung impfte ich dann mit $0 \cdot 5^{ccm}$ des letzten Verdünnungskölbchens der Bakteriensuspension und filtrierte sofort (74^{cm} Hg). Wo nichts anderes bemerkt, wurde immer eine 16 bis 20 stündige, bei 37^0 gezüchtete Coli-Agarkur verwendet. Als Verdünnungsflüssigkeit diente sterilisiertes Leitungswasser (3 Kölbchen mit je 50^{ccm}). Wurde Kochsalzlösung mit Bouillonzusatz zum Filtrieren benutzt, so geschah auch die Verdünnung in der nämlichen Lösung. Die Aussaatzahl ist die Mittelzahl von 3 oder 4 Platten, die mit je $0 \cdot 5^{ccm}$ des letzten Verdünnungskölbchens am Schluß des Versuchs angelegt wurden (Mischplatten). Die Rückstoßflüssigkeit wurde auf Drigalski-Oberflächen gegeben (4 bis 6 große Schalen), das Troknen fand im Brutschrank bei 37^0 statt. Auf besonderen Drigalskiplatten wurde der „Rest" (vgl. unten) verarbeitet. Zählung der Platten nach 2 Tagen.

[1] Siehe *Katalog der Berkefeld-Gesellschaft.* Nr. 12. S. 23 u. 24.



Tabelle I.

Aufschwemmungsmedium: Sterilisiertes Leitungswasser.

Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)	Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)
1.	66	26	11.	67·5	34
2.	10·3	7	12.	97·5	67
3.	297	178	13.	121	67
4.	422	182	14.	103	64
5.	625	340	15.	98	70
6.	330	149	16.	91·5	37
7.	232	147	17.	86·5	52
8.	136	74	18.	298	184
9.	87	60	19.	38	33
10.	114	101			

II. Versuche mit Vorfiltration von Kieselgur.

50 ^{ccm} sterilisierten Leitungswassers werden mit 0·1 ^{grm} geschlämmtem sterilisierten Kieselgurpulver aufgekocht und nach dem Abkühlen zusammen mit 4—500 ^{ccm} sterilisiertem Leitungswasser auf das Filter gegeben. Nachdem sich die Haut auf dem Filterkörper gebildet hatte, erfolgte die Zugabe der zu filtrierenden Bakteriensuspension.

Tabelle II.

A. Aufschwemmungsmedium: Sterilisiertes Leitungswasser.

Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)	Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)
1.	38·7	25	10.	80·5	65
2.	35·2	20	11.	88	67
3.	35·2	26	12.	448	167
4.	114	105	13.	590	429
5.	78·7	74	14.	130	81
6.	75	68	15.	130·5	72
7.	101	42	16.	107	98
8.	37·5	32	17. } Typhus.	70	46
9.	118·2	68	18. } Typhus.	143	119

B. Aufschwemmungsmedium: 0·85 proz. NaCl-Lösung + 0·5 proz. Bouillon.

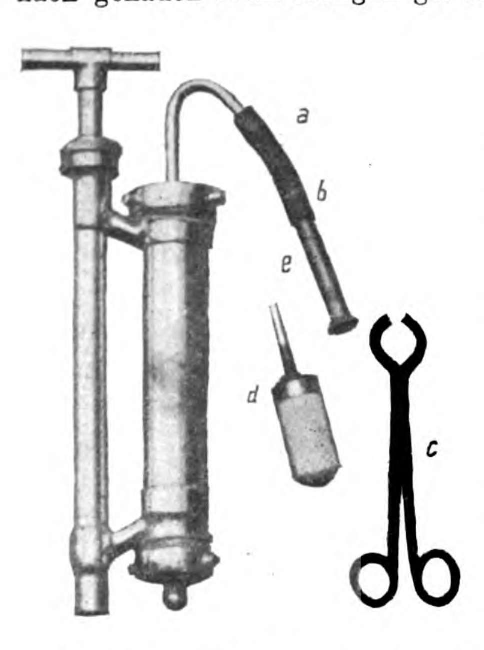
Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)	Vers.-Nr.	Aussaat (Mittelzahl)	Wiedergefunden (inkl. Rest)
1.	139	114	10.	291	73
2.	88	73	11.	85·7	62
3.	140	100	12.	53·2	71
4.	71	31	13.	40	61
5.	144	122	14.	45	33
6.	139	86	15.	69	82
7.	211	134	16.	406	351
8.	99	43	17.	153	115
9.	49	45	18.	140	138

Als Mittelzahl für die wiedergefundenen Keimmengen ergeben sich bei den Versuchen Tabelle I etwa 56 Prozent, Tabelle II A. etwa 60 Prozent, Tabelle II B. etwa 74 Prozent. Ich habe mithin die von Hesse ermittelten Keimzahlen nicht erreichen können. Um die Gründe hierfür und für die Ungleichmäßigkeit festzustellen, welche trotz der entschiedenen Verbesserungen durch die beiden Modifikationen noch immer auftraten, habe ich eine Reihe besonderer Versuche angestellt und einige Abänderungen getroffen.

Die Filter selbst habe ich beibehalten, ich benutzte zu allen Versuchen die von der Firma direkt bezogenen Berkefeldkerzen $10^1/_3$. Als Glaszylinder für die Filter wählte ich zunächst auf Hesses Vorschlag solche aus Jenaer Glas mit abgerundetem Boden (lichte Weite 5·3 ccm; Höhe 16·3 cm; Fassungsvermögen 320 ccm). Diese abgerundeten Zylinder werden aber nicht immer technisch einwandfrei geliefert: ist die Abrundung etwas stark, so kann man keine genügend sichere Abdichtung erzielen. Es ist dann auch zu befürchten, daß der Druck auf den Rand der Gummischeibe, welche auf dem Filterkörper liegt, ausgeübt und direkt auf die Filtermasse übertragen werden kann; damit ist aber eine Beschädigung des Filterkörpers leicht möglich. Die Verbindung zwischen Filterkörper und Metallkopfstück muß gelockert werden, wenn der durch die Schraubenmutter ausgeübte Druck nicht auf das Metallstück übertragen wird — wie es bei einer ebenen oder fast ebenen Fläsche geschieht —, sondern auf den Rand des Filterkörpers selbst, wie es bei gewölbter Fläche des Glaszylinders zu befürchten ist. Ich wählte daher späterhin Glaszylinder mit ebenem Boden, die — wie die Verarbeitung des „Restes" zeigte — keine oder keine nennenswerte Verschlechterung des Absaugens bedingten. Die Zylinder hatten die lichte Weite von 6·3, innere Höhe von 14.7 cm, Fassungsvermögen 430 ccm. — Die von Hesse angegebene automatische Hebervorrichtung habe ich nicht besonders praktisch finden können. Für sehr große Flüssigkeitsvolumina ist sie wohl angebracht, sie ist aber entbehrlich, wenn man größere Glaszylinder mit 800 bis 1000 ccm Fassungsvermögen benutzt. Mir leisteten später solche mit der lichten Weite 6·3 ccm, inneren Höhe 27·7 ccm, Fassungsvermögen 900 ccm gute Dienste. Bei der automatischen Hebervorrichtung ist die Oberfläche, an welcher Keime zurückgehalten werden, durch Anwendung der größeren Flasche, der Schlauch- und Rohrleitung nicht unwesentlich vergrößert.

Eine weitere Änderung mußte ich an der Mündung der zur Rückspülung dienenden Druckpumpe (kleines Armeefilter der Berkefeldgesellschaft) vornehmen. Der Ausflußzapfen mit seiner glatten Wandung bietet dem überzuziehenden Druckschlauch keinen Halt; trotz der Befestigung mit Draht, die sich bei dem häufigen Durchleiten von heißem und

kaltem Wasser lockert, kann bei den zum Rückspülen notwendigen kräftigen Kolbenstößen der Schlauch mit dem Filter herausgepreßt werden. Man läßt deshalb am besten an dem Ausflußzapfen (s. Fig. *a*) eine Schlaucholive anbringen. Sehr unbequem erwies sich ferner das Befestigen des mit Bakterien beladenen Filters an den Druckschlauch (bei *b*) der Druckpumpe vor dem Rückstoßen. Da man das Filter mit der Hand nicht anfassen darf und das einfache Einschrauben mit Hilfe von sterilen Pinzetten oder einer schmalen Drahtzange, die man an dem Filtergewinde ansetzt, nicht genügt, um ihm die nötige Festigkeit zu geben, so benutzte ich eine nach genauen Abmessungen gefertigte Kreiszange (*c*), mit der das Filter an seinem Metallring (*d*) fest augefaßt werden kann; ein weiteres Einschrauben in den Druckschlauch kann nun leicht erfolgen. Nach einer Reihe von Versuchen sitzt aber das Schraubengewinde in dem aufgelockerten Druckschlauch nicht mehr genügend fest, um dem Rückstoßdruck stand zu halten. Ich habe deshalb an den Druckschlauch eine Tülle mit Schlauchrüllen und Innengewinde angeschlossen (*e*); damit ist eine Befestigung des mit Bakterien beschickten Filters an die Druckpumpe ohne Schwierigkeit möglich, es wird nach beendigter Filtration und Lösung der Schrauben mittels eines langen, starken, in das Innere des Filtergewindes eingeführten Drahtes herausgehoben, mit steriler Pinzette am Gewinde gefaßt, in das Tüllenende eingeführt und schließlich für die letzten Schraubentouren mit der Kreiszange völlig eingebracht. Die kleine Gummiplatte, welche das Filter während des Filtrierens gegen den Glaszylinder abschloß, muß am Filter bleiben, damit bei dem nochmaligen Rückstoß nicht Wasser zwischen Tüllende und Filterflasche ausgegossen wird. Man kann sich auch eine Druckpumpe mit passendem Innengewinde herstellen lassen, auch ist die Berkefeldgesellschaft meiner Anregung gefolgt, Filtration und Rückspülung in einem Apparat vorzunehmen.



Die Versuche zur Ermittelung von Ungleichmäßigkeiten in der Methodik, die die Resultate beeinflussen könnten, betreffen das Kieselgurpulver, den Einfluß des Troknens und des Volumens der Rückstoßflüssigkeit, die Verarbeitung des Restes, die Aussaatbestimmung und die Art der Suspensionsflüssigkeit.

Das Kieselgurpulver. Es entsteht zunächst die Frage, ob dieser Zusatz zu der zu filtrierenden Flüssigkeit als indifferent zu bezeichnen ist.

Versuch 1. Von der Berkefeldfirma bezogenes, geschlämmtes Pulver wird 1 Stunde bei 150° sterilisiert und in der Menge von 0·1 grm auf je 2 Kölbchen (I, II) mit 50 ccm sterilisiertem Leitungswasser gegeben, Kölbchen III, IV mit dem gleichen sterilisierten Wasser bleiben ohne Gurzusatz. Die 4 Kölbchen werden mit 0·5 ccm einer Suspension von B. coli in Leitungswasser versehen, danach im Brutschrank bei 37° gehalten. Die Zahlen sind Mittelzahlen von 4 Agarmischplatten.

Versuch 1.

	a) Kölbchen mit Kieselgur		b) Kölbchen ohne Kieselgur	
	I	II	III	IV
Aussaat pro 1 ccm	120	120	120	120
in 1 ccm nach 1 Stde. . .	70	65	100	95
„ 1 „ „ 2 Stdn. . .	70	57	25	5
„ 1 „ „ 6 „ . .	56	155	0	0

Versuch 2.

	I	II	III	IV
Aussaat pro 1 ccm	355	—	355	—
in 1 ccm nach 1 Stde. . .	330	—	280	—
„ 1 „ „ 2 Stdn. . .	170	—	66	—
„ 1 „ „ 6 „ . .	100	—	0	—

Es zeigt sich, daß der verwendete Colistamm im Leitungswasser ohne Gurzusatz schneller abstirbt als im Wasser mit Zusatz. Bei längerer Versuchsdauer muß man damit rechnen, daß der Gurzusatz nicht indifferent ist. Das ist vor allem von den verschieden vorbehandelten Gursorten zu erwarten. Kieselgurpulver ist ja kein chemisch reines Produkt, die Gur besteht aus Kieselpanzern von Diatomeen und demgemäß auch aus organischer Substanz, ferner Eisen, Tonerde, Kalk, Magnesia. Nach Mitteilung der Berkefeldgesellschaft ergaben Analysen der weißen Kieselgur einen Gehalt von: organischer Substanz 2·3 bis 3 Prozent, Eisenoxydul 1·5 bis 2·9 Prozent, Tonerde 1·6 bis 2·4 Prozent, Kalk 0·8 bis 1·3 Prozent, Magnesia 0·0 bis 0·6 Prozent, Kieselsäure 80 bis 90 Prozent. Es ist zum mindesten nötig, geschlämmtes Pulver zu beziehen und das Schlämmen nötigenfalls zu wiederholen. Will man noch eine weitergehende Reinigung vornehmen, so empfiehlt die Firma: Auskochen der Gur mit doppelt verdünnter Salzsäure und Zusatz von chlorsaurem Kali, Auswaschen auf dem Filter. Es wird auch nicht gleichgültig sein, bei welchen Temperaturgraden und wie lange man das Pulver sterilisiert. Ich habe wie Hesse 1 Stunde bei 150° sterilisiert. Bei der einen Pulver-



probe genügte das nicht, es fanden sich restierende Sporen, die nach zwei Tagen auf den Nährböden auskeimten und durch Hautbildung die weitere Untersuchung der Platten unmöglich machten.

Inwieweit pathogene Keime im Wasser durch differente Bestandteile des Gurpulvers beeinflußt werden, muß erst noch geprüft werden.

Für Typhus habe ich die Versuche so vorgenommen, daß ich zunächst auf dem Filter eine Kieselgurhaut von 0·1 grm niederschlug, diese dann mit Rückstoß direkt auf Drigalskiplatten abhob und nun 0·5 ccm einer Typhussuspension zumischte. Die gleichen Quantitäten wurden auf Drigalskiplatten ohne Kiegelgur gegeben.

Keimzahlen auf Drigalskioberflächen (Mittel von 4 Platten):

	ohne Kieselgur	mit Kieselgur	Prozent
Versuch 1.	216	53	24·5
„ 2.	123	119	96·8
„ 3.	123	112	91·0

Versuch 1 kann nicht mitzählen, da hier die Oberflächen zu stark trocken geworden waren, aus den übrigen Versuchen geht eine Beeinflussung der Typhusbazillen durch das angewandte Gurpulver nicht hervor.

Einfluß des Trocknens. Die starke Schädigung, welche die Typhusbazillen in der Kieselgurhaut in dem eben angeführten Versuch 1 bei stärkerem Trocknen erfahren hatten (bei B. coli hatte die gleiche Zeitdauer des Trocknens sich nicht ungünstig bemerkbar gemacht), war die Veranlassung, diese Frage noch näher zu prüfen und zwar zur gleichmäßigeren Gestaltung der Versuchsbedingungen im Faust-Heimschen Apparat.

Versuch 1. 8 große Drigalskischalen von gleicher Nährbodenschicht (2 mm) wurden mit je 0·5 ccm Typhussuspension beschickt, Ausbreitung mittels Glasspatel. Die Platten wurden verschieden lange im Apparat der Luftstromtemperatur von 35 bis 36° ausgesetzt und dann umgekehrt im Brutschrank aufbewahrt.

Bakterienart: Typhus.

Aussaat (Mittel)	49.
Platte 1 u. 2 = 5 Min. Trocknung	43·5.
„ 3 „ 4 = 10 „ „	40.
„ 5 „ 6 = 16 „ „	39.
„ 7 „ 8 = 20 „ „	32.

Versuch 2. Wie oben, aber auf jede Platte außerdem 0·1 grm steriles Kieselgurpulver, suspendiert in 2 ccm sterilisiertem Wasser.

Aussaat	72.
Platte 1 u. 2 = 15 Min. Trocknung	58·5.
„ 3 „ 4 = 25 „ „	31·5.



Die Versuche mit Endoplatten lieferten ähnliche Resultate. Da nun die Typhusbazillen gegenüber dem Trocknen noch nicht einmal die empfindlichsten Bakterienarten sind, so wird man bei der Untersuchung auf pathogene Wasserkeime auf den Trocknungsgrad des Kieselgurbelags, der ja selbst eine sehr stark trocknende Wirkung besitzt, ganz besonders das Augenmerk richten müssen. So sind mir zwei Versuche mit Ruhrbazillen (Typus Shiga-Kruse) dadurch vollständig mißglückt; in zwei anderen Versuchen, in denen ich eine sehr kurze Trocknungszeit wählte, fand ich 89·6 und 92·5 Prozent unter sonst gleichen Bedingungen; es konnte nur eine zu starke Trocknung der Grund für das Mißlingen der vorhergehenden Versuche gewesen sein: dabei war aber den Platten diese zu starke Trocknung ebensowenig anzusehen, wie den oben erwähnten, den starken Rückgang aufweisenden Typhusplatten. Trocknet man weniger stark, so daß der auf den Nährbodenoberflächen ausgebreitete Gußbelag noch eine bestimmte Menge Feuchtigkeit enthält, so liefert der Typhusbacillus nicht mehr die charakteristischen kleinen geschlossenen Kolonien, sondern es wachsen Hautkolonien, die 1 bis 2 ^{cm} und noch mehr im Durchmesser betragen. Damit ist die Isolierung der Typhusbazillen bei qualitativen Prüfungen außerordentlich erschwert. Man findet zwar auf weniger dichten Platten die Stellen, wo der Typhusbacillus zu vermuten ist, heraus: auf der trockenen Gurhaut erscheint bei auffallendem Lichte eine flache, blaue, feuchte Aufhellungszone, in deren Mitte eine wenig prominente Erhebung (Ausgangskolonie) sich befindet. Aber schon die Reinkulturkolonien gehen ineinander über; hat man eine Mischkultur vor sich, so ist das Erkennen der Typhuskolonien in der Regel auf solchen Platten unmöglich. Wendet man andrerseits stärkere Trocknungsgrade an, so besteht die Gefahr der Schädigung. Man hat aber für das Zuviel oder Zuwenig des Trocknens des Kieselgurbelags keinen Maßstab. Auch wenn der Belag auf den Platten trocken erscheint, so kann sich doch soviel Feuchtigkeit in der Gurmasse finden, daß die Typhusbazillen zum Hautwachstum kommen. Es vollzieht sich auch auf ein und derselben Nährbodenoberfläche, auch wenn die Platten beim Trocknen im Brutschrank horizontal stehen und die Nährbodenschichten gleich dick sind, das Trocknen nicht gleichmäßig: man muß dann immer mit dem Spatel nachhelfen, um die Flüssigkeitsreste weiter auszubreiten. Bestimmte Stellen erfahren eine intensivere Trocknung wie andere.

Man könnte vermuten, daß es für das Resultat nicht gleichgültig ist, ob man das auf die Plattenoberfläche aufzutragende Volumen der Rückstoßflüssigkeit kleiner oder größer wählt. Bei der kleineren Menge wird man ein rascheres Trocknen erreichen, bei dem größeren Volumen bleiben die Keime auf der Nährbodenfläche eine längere Zeit mit der Aufschwem-



mungsflüssigkeit, die sich konzentriert, in Berührung. Eine besondere Frage ist dann auch, wie sich dabei die Zumischung von Kieselgur äußert. — Meine Versuche in dieser Richtung haben ergeben, daß die wiedergefundenen Colikeimzahlen die gleichen sind, wenn die aufgetragenen Volumina auf großen Drigalskiflächen 0·5, 1, 2 oder 4 ^{ccm} betragen; das Trocknen geschah dabei im Brutschrank bei 37° bei abgehobener Oberschale. Mischt man Kieselgur zu diesen Colisuspensionen hinzu, so tritt bei kurzem Trocknen eine Schädigung nicht ein, wenn die Suspensionsflüssigkeit Leitungswasser ist, bei Verwendung von Kochsalzlösung mit 0·5 Prozent Bouillon kam es hingegen mehrmals zu einer geringen Schädigung bei Auftragen der Flüssigkeitsvolumina 2 bis 4 ^{ccm}. Man hätte gerade im Gegenteil erwarten können, daß innerhalb dieser schwachen Nährlösung es zu einer Keimvermehrung auf der Nährbodenfläche hätte kommen müssen. Vielleicht erklärt sich die Schädigung aus dem Konzentrierterwerden der Salzlösung und der gleichzeitigen Wasserentziehung durch das Kieselgurpulver.

Für quantitative Bestimmungen können sich Schwankungen in dem Prozentsatz der wiedergefundenen Keime auch dadurch ergeben, daß man den im Glaszylinder verbleibenden Rest mit verarbeitet oder vernachlässigt. Auch ist an die Glasspatel zu denken, die man zum Ausstreichen der Rückstoßflüssigkeit, namentlich des ersten Stoßes, benutzt. Hesse empfiehlt in seiner ersten Arbeit, den Rest stets zu verarbeiten, später schaltete er ihn dadurch aus, daß er ihn nach Abänderung der Technik vollständig absaugte. Man könnte trotzdem erwarten, daß sich in dem den Filter umgebenden Glaszylinder während der Versuchsdauer Keime absetzen, und daß das namentlich der Fall sein müsse, wenn man dem zu filtrierenden Wasser Kieselgurpulver zusetzt, von dem sich immer Partikelchen am Boden des Zylinders abgesetzt finden. — In meinen Versuchen war die Quantität der zurückbleibenden Flüssigkeit ganz verschieden. Es richtet sich das nach der Beschaffenheit der unteren Filterfläche, die zwischen äußerer Metallfassung und der abschließenden Gummischeibe freibleibt. Man kann schließlich auch durch länger fortgesetztes Aspirieren den letzten Rest fortsaugen, damit aber wird meist die Versuchsdauer nicht unwesentlich verlängert. Ich habe bei der Bestimmung der Restkeimzahl nicht nur die zurückgebliebene Flüssigkeit direkt auf Platten gebracht, sondern auch mit sterilem Wasser die unteren Glaszylinderflächen abgespült und das Spülwasser auf Platten gegeben. In der folgenden Tabelle sind die Restkeimzahlen mit der Keimaussaat und mit der Zahl der in der Rückspülflüssigkeit wiedergefundenen Keime verglichen.

Keimart: B. coli.

Vers.-Nr.	Aussaat	Wieder-gefunden bei der Rückspülung	Rest	Vers.-Nr.	Aussaat	Wieder-gefunden bei der Rückspülung	Rest
1.	99	43	0	15.	87	60	0
2.	31	23	0	16.	114	101	0
3.	232	142	5	17.	135	161	1
4.	136	73	1	18.	330	148	1
5.	297	171	7	19.	118	68	0
6.	98	69	1	20.	81	65	0
7.	92	37	0	21.	88·8	62	0
8.	625	336	4	22.	165	111	2
9.	98	67	0	23.	153	136	2
10.	68	34	0	24.	135·5	58	3
11.	38	31	2	25.	69	82	0
12.	121	67	0	26.	448	167	0
13.	98	67	0	27.	355	304	3
14.	68	32	1				

Unter 13 Versuchen mit einer niedrigeren Aussaat als 100 Keime (in 1 Liter) war der Rest 11 mal keimfrei und enthielt in zwei Fällen 1 Keim. In der Hälfte der Versuche enthielt der Rest überhaupt keine Keime. Im Höchstfalle würden noch nicht 5 Prozent zu der wiedergefundenen Zahl zu addieren sein, im Mittel der 27 Versuche 1·4 Prozent. Die tatsächliche Keimzahl, die im Glaszylinder zurückbleibt, ist natürlich etwas höher, da man annehmen muß, daß an den Wänden Keime hängen bleiben.

Hesse empfiehlt im Interesse des vollständigeren Absaugens die am Fußboden des Glaszylinders zur Abdichtung dienende Gummischeibe parallel zu ihrer Peripherie um etwa 3 ^{mm} zu verkleinern. Ich habe diese Vorschrift in allen meinen Versuchen befolgt, wurde aber gelegentlich von Hrn. Endler darauf aufmerksam gemacht, daß dies nicht rätlich sei. Ich habe daraufhin in vier Parallelversuchen mit demselben Filter die Scheibe unverkürzt und gekürzt angewendet. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie sonst (Niederschlagen von 0·1 ^{grm} Kieselgur mit sterilem Wasser auf die Kerze, Durchsaugen von 1 Liter des bakterienhaltigen Wassers u. s. f.).

		Aussaat	Wieder-gefunden	Prozent im Mittel
A. Unverkürzte Scheibe.	Versuch 1.	132	121	79·9.
	" 2.	36	31	
	" 3.	216	149	
	" 4.	123	90	



		Aussaat	Wieder-gefunden	Prozent im Mittel
B. Gekürzte Scheibe.	Versuch 1.	92·5	61	74·2.
	„ 2.	101	69	
	„ 3.	122	96	
	„ 4.	124	114	

In den Versuchen A. 1, 2, 4 blieb ein Rest mit je etwa 1 ccm, der keine Keime enthielt. Es ergibt sich eine etwas höhere Zahl der wiedergefundenen Colikeime bei Anwendung der unverkürzten Scheibe. Ich möchte auch auf Grund von anderen Beobachtungen das Verkürzen der Scheibe nicht empfehlen: man kann beim Ausführen des Rückstoßes wahrnehmen, daß die an der unteren Filterfläche (zwischen Metallfassung und Gummischeibe) gebildete Kieselgurhaut sich am wenigsten gut abhebt. In zwei Versuchen habe ich diese Fläche nach Beendigung des Rückstoßes noch mit sterilem Platinspatel abgeschabt und in dem einen Falle 1 B. coli (Aussaat 67·5; wiedergefunden in der Haut 33), in dem anderen Falle 3 B. coli (Aussaat 297; wiedergefunden 178) nachweisen können. Je schmäler also die Filterzone an der Unterfläche ist, um so günstiger scheint das für das Wiederfinden der abfiltrierten Keime zu sein. Eine wesentliche Verringerung der Filterzeit durch das Abkürzen der Scheibe ist mir nicht aufgefallen.

Der Rest, der nach dem Ausbreiten der Rückspülflüssigkeit (mit Kieselgur) auf der ersten Platte (Drigalski- oder Endoagar) an dem Glasspatel verbleibt, wurde in 22 Versuchen derart ermittelt, daß der Spatel über eine oder zwei Platten gestrichen wurde.

Originalplatte mit Kolonien	41	34	55	48	61	78	83	208	98	135	181	26	24	38	106	92	227	217	539	517	31	22
Spatelrest . .	0	0	4	2	3	0	0	3	3	0	3	0	0	0	0	0	1	4	2	0	0	0

In 13 von 22 Versuchen enthielt also der Spatel keine Restbakterien. In allen Versuchen ergibt sich 0·9 Prozent als Mittelwert, im Höchstfalle 7·3 Prozent. Dieser hohe Prozentsatz bei relativ niederer Aussaat (55) erklärt sich wohl daraus, daß es sich hier nicht um eine homogene Suspension bei der Verteilung auf Platten handelt, sondern um die Ausbreitung der Filterhaut. Man wird für die Untersuchungen in der Praxis nur einen Spatel für alle Platten nehmen und wird auch bei genauen Untersuchungen den Fehler, der durch einen etwaigen Spatelrest entsteht, vernachlässigen können.

Eine weitere Fehlerquelle, die zu einer nicht ganz richtigen Beurteilung der Methode führen könnte, ist in der Art der Suspensionsflüssigkeit gelegen, die man zu den theoretischen Vorversuchen benutzt.

Im Gegensatz zu Hesse habe ich als Filtrierflüssigkeit nicht Kochsalzlösung, sondern Leitungswasser gewählt, nur für Vergleichszwecke nahm ich Kochsalzlösung. Daß Hesse die letztere bei der rückläufigen Spülung benutzte, hatte seinen Grund darin, daß er die Spülflüssigkeit anfangs in Gelatine gab, deren Leim- und Nährstoffgehalt durch Wasserzugabe ja zu stark vermindert worden wäre. Bei Aufgabe der Rückspülflüssigkeit auf Nährbodenoberflächen kann aber die Benutzung von Kochsalzlösung zur rückläufigen Spülung nicht ohne weiteres als indifferent bezeichnet werden, hier muß durch Kontrollversuche ermittelt werden, inwieweit sich die Keimzahl während der Abdunstungszeit unter dem Einfluß des sich stärker konzentrierenden Kochsalzes verändert. Die verschiedenen Keimarten und -stämme können sich hierbei vielleicht verschieden verhalten, von vornherein kann man das nicht wissen. Hesse hat nun aber dann für die Filtration überhaupt Kochsalzlösung beibehalten, und zwar, wie es scheint, bis zum Versuch 27 seiner ersten Arbeit nur Kochsalzlösung, hingegen für die Untersuchung größerer Flüssigkeitsmengen, wie aus der Bemerkung auf Seite 541 hervorgeht, Kochsalzlösung plus 0·5 Prozent Bouillon (bei Coli und Paratyphus B). Wie auf Seite 541 vermerkt ist, trat bei Paratyphus B in physiologischer Kochsalzlösung ohne Zusatz eine Verminderung ein (nach 3 bis 4 Stunden um 3 bis 4 Prozent, nach 5 Stunden waren von 3 bis 400 Paratyphusbazillen bei Zimmertemperatur und unter Lichtabschluß nur noch 3 bis 4 vorhanden). Zugabe von 1 Prozent Bouillon ergab anderseits in 4 bis 5 Stunden eine erhebliche Vermehrung, er entschied sich daher bei diesen Versuchen für $^1/_2$ Prozent Bouillonzusatz, bei dem er Vermehrung in etwas geringerem Grade wahrnehmen konnte. Es sei hier erwähnt, daß auch in der zweiten Arbeit Hesses Seite 313 bei den Coliversuchen 1 bis 4 als Filtrierflüssigkeit nach brieflicher Mitteilung die physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von $^1/_2$ Prozent Bouillon verwendet wurde. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, daß in manchen Fällen der hohe Prozentsatz der von Hesse wiedergefundenen Keime in einer Vermehrung während der Versuchsdauer eine Erklärung findet. Hesse fand schon bei der ursprünglichen Methode, die ja nach seiner späteren Kritik unzulänglich war, in einzelnen Fällen bis zu 130 Prozent Einsaat wieder! Er gibt selbst zu, daß es schon aus rein mechanischen Gründen unmöglich sei, alle eingesäten Bakterien wiederzufinden. Die hohen Zahlen ist er geneigt auf ungleichmäßige Verteilung der Bakterien zurückzuführen. Man wird aber für solche Versuche eben Keimarten und Stämme von vornherein wählen müssen, bei denen eine gleichmäßige Verteilung möglich ist. So berechtigt ferner ein gewisser Bouillonzusatz zum Wasser oder zur physiologischen Kochsalzlösung für bestimmte Bakterienarten und Stämme ist, so darf diese Forderung



doch nicht verallgemeinert werden, wenn man ein indifferentes Aufschwemmungsmedium braucht. Es bleibt nichts anderes übrig, als das für die betreffenden Arten und Stämme unter den wechselnden Bedingungen der Versuche auszuprobieren. Erfolgt im warmen Zimmer in einer schwachen Nährlösung eine Vermehrung bestimmter Keimarten, so würde damit eine recht unsichere Unterlage für die Beurteilung der Methode selbst gewonnen sein. Hesse schreibt: „In praxi werden derartige Bedenken insofern eine geringe Rolle spielen, als in einem mit lebenskräftigen, dem Darm entstammenden Typhusbazillen verunreinigten Brunnenwasser stets genügend organische Stoffe vorhanden sein werden, so daß ein schnelles Absterben nicht zu befürchten ist, eine Vermehrung aber im Interesse des Nachweises nur mit Freuden zu begrüßen wäre. Allerdings wird letztere nicht erwartet werden dürfen.“ Man muß dem letzten Satz zufügen: wohl aber wird eine Vermehrung der Saprophyten zu befürchten sein; es muß vielmehr gerade mit Hinblick auf den praktischen Nachweis pathogener Keime im Wasser zunächst ein indifferentes Medium gewählt werden.

Für den von mir verwendeten Colistamm nahm ich folgende Prüfung vor:

Eine Öse 16 bis 20 Stunden alter Agarkultur wird in 50 ccm (I) physiologischer Kochsalzlösung + 0·5 Prozent Bouillon verteilt, davon 0·1 ccm in 50 ccm (II) ebensolcher und hiervon 0·5 ccm in 50 ccm (III) der gleichen Aufschwemmungsflüssigkeit. Von Kölbchen III erfolgten Aussaaten (0·5 ccm) auf je drei sterile Petrischalen, Übergießen und Mischen in der Platte mit neutralem Agar. Die Kölbchen wurden bei Zimmertemperatur unter denselben Bedingungen wie die filternde, von derselben Keimsuspension infizierte Flüssigkeit gehalten. Am Ende der Filtration erneute Entnahme von 0·5 ccm aus dem geschüttelten dritten Kölbchen.

1. Verhalten von B. coli in Kochsalzlösung + 0·5 Proz. Bouillon. Keimzahl pro 1 ccm.

Vers.-Nr.	Bei Beginn des Versuches	Am Schluß des Versuches	Nach wieviel Minuten?	Vers.-Nr.	Bei Beginn des Versuches	Am Schluß des Versuches	Nach wieviel Minuten?
1.	355	406	60′	5.	131	139	50′
2.	165	153	50′	6.	176	214	60′
3.	88·5	111·5	45′	7.	148	139	50′
4.	267	315	55′	8.	198	227	60′

In der großen Mehrzahl der Versuche vermehrte sich also dieser Colistamm während der Dauer eines Filtrationsversuchs. Ich prüfte daher das Verhalten im sterilen Leitungswasser.



2. Verhalten von B. coli im sterilen Leitungswasser.
Versuchsanordnung wie oben, auch die Verdünnungskölbchen I und II enthielten Leitungswasser.

Vers.-Nr.	Bei Beginn des Versuches	Am Schluß des Versuches	Nach wieviel Minuten?	Vers.-Nr.	Bei Beginn des Versuches	Am Schluß des Versuches	Nach wieviel Minuten?
1.	118	121	45′	7.	181	182	50′
2.	162	176	1h 30′	8.	108	109	55′
3.	86	79	60′	9.	101	122	55′
4.	79	75	60′	10.	448	590	1h 15′
5.	78	71	50′	11.	131	131	60′
6.	71	70	42′				
3. Verhalten von Typhus im sterilisierten Leitungswasser.							
1.	345	324	1h 20′	5.	140	132	50′
2.	140	144	45′	6.	299	233	45′
3.	144	148	45′	7.	151	143	60′
4.	47	64	50′				

Im allgemeinen eignet sich also im vorliegenden Falle für die betreffenden Kulturstämme das Leitungswasser gut als Aufschwemmungsmedium, die Keimzahl bleibt während der Dauer eines Versuchs ziemlich konstant; es würde für die Beurteilung der Methode keinen großen Unterschied machen, wenn man lediglich die am Anfang des Versuchs ausgesäte Keimmenge in Rechnung ziehen würde. Ich habe aber gleichwohl den am Ende des Versuchs ermittelten Zahlen den Vorzug gegeben. Freilich sind auch die im Aussaatkölbchen befindlichen Keime und die im Filtrierversuch benutzten nicht ohne weiteres zu identifizieren: von dem Moment ab, wo man aus der zur Aussaat dienenden Bakteriensuspension eine kleine Quantität in ein größeres Volumen Flüssigkeit bringt (um sie aus diesem größeren Volumen wieder zurückzugewinnen), können auf diese Bakterien eine ganze Reihe begünstigender oder schädigender Momente einwirken, deren schließlichen Einfluß auf die Keimzahl wir nicht erfahren, da wir der wenigen in dem großen Volumen verteilten Bakterien nicht habhaft werden. Ermitteln wir ihre Quantität durch das Verfahren mit dem Berkefeldfilter, so erhalten wir noch nicht ohne weiteres einen Einblick in die Leistungsfähigkeit dieser Methode, weil wir ja nicht wissen, wieviel der eingesäten Keime während des Versuchs zugrunde gingen oder sich vermehrt haben. Die der Filtrierung unterliegende Flüssigkeit enthält eine bei weitem geringere Keimzahl als die zum Vergleich dienende Ausgangssuspension, es ist bekannt, daß in solchen dünneren Suspensionen die Keimzahl sich anders verhält, wie in dichteren. Filtriert man eine schwache Nährlösung, so sind vielleicht während der Filtration für die Keime andere Lebensbedingungen gegeben wie in der Kontrollflüssigkeit, wir wissen nicht,

ob im Filter das stete Vorbeiführen neuen Nährmaterials verbunden mit der günstigeren Sauerstoffzufuhr belebend auf die Keime einwirkt, oder ob nicht andere begünstigende oder schädliche Einflüsse bestehen.

Hesse erwähnt S. 541, daß er Zählplatten zu Beginn und am Ende der Filtration angefertigt und das Ergebnis danach berechnet habe. Es ist leider nirgends angegeben, wie diese Berechnung erfolgt ist: sind nur die Zahlen am Ende der Filtration berücksichtigt, oder ist ein Mittelwert berechnet? Wurden auch bei allen späteren Versuchen am Schluß der Filtration von dem Ausgangsmaterial Zählplatten angelegt? Man muß annehmen, daß vom 28. Versuch ab (S. 546) das nicht der Fall gewesen ist, denn von hier ab wird bei der Versuchsanordnung nur erwähnt, daß soundso viel Kochsalzlösung (mit oder ohne Bouillon?) mit Bazillen infiziert wurde. Später (S. 316 der zweiten Arbeit) findet sich die Notiz, daß bei jedem Versuch mehrfach 1 ccm der letzten Verdünnungsstufe zu Zählplatten benutzt wurde. Es bleibt somit im Unklaren, welche Aussaatmenge Hesse einsetzt. — Für die Aussaatbestimmung selbst habe ich in der großen Mehrzahl der Fälle nicht nur Drigalski- oder Endooberflächen benutzt, sondern auch in der gewöhnlichen Weise Platten mit neutralem Agar gegossen (wobei ich die abgemessene Bakteriensuspension direkt in die sterile Platte gab und dann den Agar unter Schwenken der Platte aufgoß). Hesse macht S. 526 Hilgermann zum Vorwurf, daß er für seine Versuche selbst Drigalskioberflächenkulturen, für die Kontrollzählplatten aber Agarmischplatten verwendet habe. Wie aus meinen vergleichenden Versuchen hervorgeht, weichen die Mittelzahlen nicht erheblich voneinander ab, wohl aber sind die Agarmischplatten in jedem Falle eine schätzbare Kontrolle für die Oberflächenaussaaten, bei denen die jeweilige Beschaffenheit des schwerer herzustellenden Nährbodens, der Trockenheitsgrad der Oberfläche, die Art der Aufbewahrung im Brütschrank usw.. beeinflussen können.

Vergleich zwischen Oberflächenaussaaten und Mischplatten.

Vers.-Nr.	Bakterien-arten	Oberfläche	Keimzahlen	Mittel	Misch-platten	Keimzahlen	Mittel
1.	B. coli	Endo	140 132	136	Gewöhnlicher Agar	132 128 134	131
2.	„ „	Drigalski	43 41 46 40	42	desgl.	34 38 44 40	39
3.	„ „	„	539 565 517 561	545	„	523 465 592 597	544
4.	„ „	„	99 103 95 85	95·5	„	79 78 94 83	83·5
5.	„ „	Endo	103 115	109	„	87 98	92·5
6.	„ „	Drigalski	44 38	41	„	41 42 33	38·7
7.	„ „	„	185 231	208	„	197 211 224	211
8.	Typhus	Endo	142 124 148	138	„	141 116 138	131·7



Die Unterschiede sind also nicht sehr groß, man muß eben Plattenserien anwenden, um Mittelzahlen zu erhalten.

Da man die günstigsten Zahlen bei dem Bakteriennachweis durch das Berkefeldfilter dann erhält, wenn man die Außenfläche des Filters mit einem Mantel von Gurpulver überzieht, der die Keime vor dem tieferen Eindringen in die Kerze schützt, so war die Frage naheliegend, ob es denn nun noch wie bei der ursprünglichen Methode ohne Kieselgurpulver nötig sei, nach beendeter Filtration die Rückspülung anzuwenden oder ob man nicht einfacher verfahren könne. Wie oben ausgeführt, hat schon Klein die an der Oberfläche des Filters abgefangenen Keime mit einer weichen Bürste zu entfernen gesucht, und Chantemesse wusch die Oberfläche mit reichlichem Wasser ab. Die Resultate mußten unvollkommen sein, da sie damit nur die ganz an der Oberfläche befindlichen Keime erhielten. Da die Kieselgurschicht aber das Eindringen hindert und sich offensichtlich leicht abheben läßt, so konnte man versuchen, sie abzuschaben. Ich habe das zunächst mit einem weichkantigen Platinspatel getan, dann aber Haarpinsel vorgezogen, die ich durch Eintauchen in kochendes Wasser sterilisiert hatte. Man muß dabei vorsichtig sein, damit der Pinsel nicht auseinander fällt. Auch mit dem Platinpinsel läßt sich die Gurhaut leicht entfernen. Es empfiehlt sich, den Pinsel reichlich mit Wasser zu befeuchten und auch nach Entfernung der Gur noch mit Wasser nachzuspülen. Damit das noch energischer geschieht, kann man steriles Wasser aus einer Spritzflasche, deren Auslauföffnung am besten recht fein ist, auf das von der Kieselgurhaut befreite Filter aufspritzen und das Spülwasser direkt auf die Plattenoberflächen geben.

Bei den vergleichenden Versuchen wurden Parallelreihen mit denselben Filtern angesetzt. Die Versuchanordnung war die übliche: Niederschlagen eines Kieselgurmantels mit 0·1 ^{grm} Gur vor dem Versuch, Durchfiltrieren der Keimsuspension (B. coli, 1 Liter). Das eine Mal wurde sodann wie gewöhnlich die Filterhaut durch Rückstoß abgehoben, das andre Mal durch Pinsel.

	I. Rückstoß			II. Pinsel		
Kerze Nr.	Aussaat	Wiedergefunden	Prozent	Aussaat	Wiedergefunden	Prozent
I.	590	429	72·7	121	69	57·0
II.	448	167	37·3	135·5	61	45·0
IIIa.	108	73	67·6	116	90	77·5
b.	145	73	50·4	117	72	61·5
c.	158	90	57·0	139	118	84·8
d.	135	92	68·1	132	66	50·0
e.	119	85	71·4	97	36[1]	37·1
		im Mittel:	60·7		im Mittel:	58·9

[1] Eine Platte zeigte Hautwachstum.



In den vorliegenden Versuchen war also die Zahl der wiedergefundenen Keime bei Abheben des Gurmantels mit dem Pinsel etwa die gleiche wie beim Rückstoß. Die Kerzen waren neu. Ob auch bei schlechten Kerzen mit Vertiefungen an der Oberfläche das Abheben des Gurpulvers mit dem Pinsel und Abspülen das Gleiche wie das Rückstoßen leisten, bleibt noch zu untersuchen. Sollten sich die Resultate verallgemeinern lassen, so wäre damit eine wesentliche Vereinfachung der Methode gegeben; denn gerade die Handhabung der Druckpumpe zum Abheben der Kieselgurhaut ist nicht ganz leicht, man hat auch bei einiger Übung die Menge der Rückstoßflüssigkeit nicht immer in Gewalt. Bei der Methode des Abstreifens und Abspülens hingegen kann man das auf die Platten aufzutragende Flüssigkeitsquantum jederzeit mit der Größe der Plattenoberflächen in Einklang bringen. Für die Fälle, bei denen es gar nicht darauf ankommt, alle Keime von dem Filter fortzubekommen, wird man jedenfalls dieses einfache Verfahren anwenden können.

Mit der von der Berkefeldfiltergesellschaft neuerdings zusammengestellten Apparatur, die Hesse am Schluß seiner dritten Arbeit erwähnt, habe ich nur zwei Versuche ausgeführt. Bei ihr wird die zur Untersuchung dienende Kerze direkt in das Armeefilter eingeschraubt. Nachdem ich zunächst 1 Liter kochendes Wasser und danach 3 Liter abgekühltes steriles Wasser durch den Apparat geschickt hatte, stellte ich einen blinden Versuch an: es wurde mit einer Suspension von 0.15 grm Kieselgur ein Mantel auf dem Filter niedergeschlagen, der nach Umschrauben (vgl. die Schilderung von Hesse III, S. 13) durch Rückstoß auf Platten gebracht wurde. Diese blieben steril. — Bei zwei Coliversuchen fand ich von 33 bzw. 134 Keimen 11 bzw. 50 wieder. Beide Male waren die Keime in 6 Liter sterilen Wassers aufgeschwemmt, das Niederschlagen des Gurmantels erfolgte auch hier vor der Bakterienfiltration.

Es sind dies natürlich zu wenig Versuche, sie zeigen aber, daß man auch bei dieser Apparatur im Anfang keine sehr hohen Prozentsätze findet. Bei weiterer Einübung wird man gewiß bessere Ergebnisse erzielen. Als einen technischen Mangel möchte ich es bezeichnen, daß man bei Herausnahme des Körpers aus dem Filterzylinder des Armeefilters bei dem Apparat, der mir zur Verfügung stand, sehr leicht mit dem Kieselgurmantel anstoßen kann, so daß sich Gurmasse abstreift. Um das Ansaugen von Luft zu vermeiden und um zu verhüten, daß nicht ein zu großer Verlust durch den Keimrückstand in Schlauchleitung und Filterzylinder entsteht, dürfte es sich empfehlen, eine Nachfiltration mit sterilem Wasser vorzunehmen, wenn es sich um genauere quantitative Versuche handelt. Da bei dem Apparat sicher schon leichte Erschütterungen beim Handhaben der Pumpe von Einfluß auf die Bildung und Unversehrtheit der Filterhaut sind, so



wird man, wenn ein Wasserstrahlsauger zur Verfügung steht, es vorziehen, diesen zum Durchsaugen des Wassers zu benutzen.

Versuche mit Filtration unter höherem Druck habe ich nur zur Orientierung an einem Wasserhahn der Berliner Leitung vorgenommen. Ein geeignetes keimarmes Wasser für diese Zwecke stand mir nicht zur Verfügung. Hingegen habe ich versucht, mit dieser Methode die Protozoen des Leitungswassers zu untersuchen; hierüber ist später zu berichten. Hier sei nur hervorgehoben, daß bei dieser Filtration unter höherem Druck die genaue Abmessung des Wassers auf Schwierigkeiten stößt, und daß im Anfang ein mehr oder weniger starkes Ablösen von Kieselgur beim Abnehmen des Metallzylinders vom Leitungshahn und beim Umdrehen und Herausnehmen der Kerze leicht eintritt.

Wie wir gesehen haben, vermögen die mannigfachen Einflüsse, denen ich im Vorstehenden nachgegangen bin, auf die Resultate der Filtrationsmethode in verschiedener Weise sich geltend zu machen und die Unregelmäßigkeiten zu erklären, unter denen meine Versuche litten. Wenn ich dadurch veranlaßt werde, die Methode des Bakteriennachweises durch das Berkefeldfilter nicht ganz so günstig wie Hesse zu beurteilen, so halte ich sie doch für einen Fortschritt. Ihr Gebiet bilden vor allem die sehr keimarmen Wässer; hier gibt die Methode die Möglichkeit, den größten Teil der in einem größeren Volumen befindlichen Keime auf den Kieselgurmantel zu konzentrieren in einer Zahl, die durch keine der bisherigen Methoden erreicht werden konnte. Man darf aber nicht damit rechnen, daß die Methode für diese quantitativen Zwecke immer gleichmäßige Resultate liefert. Für die qualitative Untersuchung auf pathogene Bakterien stört der Kieselgurzusatz das charakteristische Kolonieenbild, es ist daher nötig, den Filterbelag auf größere Serien von Platten zu verteilen. Damit nähert man sich einer Forderung, die auch bei den Eisenfällungsmethoden für eine Besserung des Resultats erhoben werden muß. Diese werden durch die Methode der Berkefeldfiltration zur Zeit noch nicht überflüssig gemacht, denn sie sind einfach zu handhaben und liefern bei mittlerem Keimgehalt gute Ergebnisse. Woran es gelegen hat, daß Hesse mit diesen Verfahren wenig günstige Resultate hatte, läßt sich nicht feststellen, die Versuchsprotokolle sind nicht wiedergegeben. Da der Fällungsprozeß nur bei Innehaltung bestimmter Versuchsbedingungen normal verläuft, und Hesse nicht anführt, inwieweit er nach Erklärungen für den ungünstigeren Ausfall der Versuche gesucht hat, so besteht kein Grund, die guten Ergebnisse, die eine ganze Reihe anderer Autoren mit Methoden beobachteten, anzugreifen. Es bedarf keiner Erwähnung, daß man reine Eisenpräparate verwenden muß und nicht etwa Ferrisulfat mit 4 bis 5 Prozent Schwefelsäure. Auch das läßt sich nicht gegen die Eisen-



fällungsmethoden vorbringen, daß diesem unreinen Präparat gegenüber Choleravibrionen sich empfindlich erweisen: bisher hat noch niemand die Eisenfällung für den Nachweis von Choleravibrionen empfohlen, hierfür liegt gar kein Bedürfnis vor, es existieren m. W. auch noch keine Versuche hierüber. Ich schließe mich dem Bedenken Hesses an, daß „namentlich bei längerer Einwirkung" eine Schädigung nicht ausgeschlossen ist, aber es wird auch kaum ein Untersucher die empfindlichen Vibrionen längere Zeit mit einer Eisensalzlösung in Berührung lassen, ebensowenig wie jemand die bei Wasserentziehung leicht zu schädigenden Vibrionen mit dem Gurpulver auf dem Berkefeldfilter oder der Nährbodenoberfläche längere Zeit trocknen lassen würde. — Das Ziel der Eisenfällungsmethoden war zunächst, Typhusbazillen im Wasser leichter auffindbar zu machen, da die direkte Untersuchung kleiner Volumina im Stich läßt. Ein typhusverdächtiges Wasser wird aller Voraussetzung nach auch andere Bakterien enthalten: die Ernährungsbedingungen der Typhusbazillen sind nicht derart, daß sie in einem Wasser existieren könnten, dessen Beschaffenheit der Anwesenheit aller anderen Wasserbakterien ein Ziel setzt. Solche niedrige Keimzahlen (in 1 ccm weniger als 1 Keim), wie sie Hesse für den Nachweis durch das Berkefeldfilter in der künstlichen Suspensionsflüssigkeit anwandte, dürften in der Praxis bei einem typhusverdächtigen Wasser kaum oder äußerst selten vorkommen. Ich selbst habe für meinen Vorversuch bei der Eisenfällung mittlere und hohe Keimzahlen verwendet. Wenn man nun bei solchen Wässern die chemische Fällung oder die Berkefeldfiltration anwendet, so ist es gleichgültig, ob man mit diesen Verfahren alle Keime im Sediment oder Gurmantel abfängt oder nicht: solange wir für die zu suchenden pathogenen Keime im Wasser keine Elektivnährböden haben, brauchen wir ja für die Untersuchung gar nicht alle Keime, sonst müßten viel zu große Serien von Platten angelegt werden. Wenn allerdings in der Praxis Wässer vorkommen, die pathogene Keime und dabei eine minimale Gesamtzahl Bakterien enthalten, so ist es gar keine Frage, daß hier die Methode der Filtration die besten Chancen liefert. Auch für die Anwendung der Methode zu quantitativen Untersuchungen muß die Praxis die Indikationen aufstellen. Bisher hat man nicht sehr häufig das Bedürfnis gehabt, eine genauere Keimzahl zu ermitteln, wenn im Kubikzentimeter Wasser sich weniger als 1 Keim befand. Man kann sich ja dann immer noch dadurch helfen, daß man ein größeres Quantum Nährboden etwa in Kolle- oder größeren Glasschalen mit dem entsprechend größeren Volumen Wasser beschickt. Sind sehr große Volumina Wasser zur Untersuchung zu nehmen, so wird, wie erwähnt, bei solchen keimarmen Wässern die Methode auch für quantitative Bestimmungen am Platze sein. Ein geübter Untersucher wird die dabei bestehende Möglich-



keit der Verunreinigung durch fremde Keime oder Keimverluste herabzudrücken oder auszuschalten verstehen.

Hinsichtlich der qualitativen Untersuchung des Wassers mit dem Berkefeldfilter könnte man namentlich beim Lesen des Kapitels „Praktisch wichtige Versuche" in der ersten Hesseschen Arbeit S. 543 den Eindruck gewinnen, als ob der Nachweis z. B. von pathogenen Keimen nunmehr sehr erleichtert sei. Die dort aufgeführten Versuche sind noch nach der ursprünglichen Methode ohne Gurzusatz angestellt. Hesse versetzte 75 bis 300 ccm Pleißenwasser mit 925 bis 1900 Kochsalzlösung und impfte die Mischung mit wechselnden Mengen von Paratyphus B-Bazillen (56 bis 140). Er fand stets durch die Agglutination Paratyphusbazillen wieder, und zwar im ersten Falle (75 ccm Pleißenwasser + 925 NaCl-Lösung + 56 Paraty.-Baz.) 25 d. h. 45 Prozent der Aussaat, in den anderen Fällen 4·2, 2·8, 1·4 Prozent der ausgesäten Paratyphuskeime. Das Gesamtvolumen der Bakteriensuspension betrug im ersten Falle 1 Liter, in den übrigen Versuchen 2 Liter Flüssigkeit. — Für das Auffinden der Paratyphusbazillen ist natürlich ihr Verhältnis zu den Wassersaprophyten in erster Linie maßgebend. Da sind denn die Versuche Hesses als mäßig zu bezeichnen. Aus Versuch 28 (S. 546) ersieht man, daß aus 75 ccm Pleißenwasser auf fünf Drigalskiplatten 345 Wasserkeime wuchsen. Nimmt man an, daß dies Filter das Wiederfinden von 50 Prozent Keimen ermöglichte, so enthielt in jener Zeit das Pleißenwasser pro 1 ccm $\frac{690}{75}$, das sind etwa neun auf Drigalskiagar auswachsende Keime, und das Verhältnis der Paratyphusbazillen zu diesen Begleitbakterien war 1 : 12, oder wenn ein sehr gutes Filter vorlag, das alle Bakterien wiederfinden ließ, 1:6. Würde man für die Untersuchung dieser Suspension so verfahren, wie es in den Typhusstationen bei der Untersuchung von Typhusfäzes geschieht, d. h. für eine Untersuchung sieben große Drigalskischalen verwenden, so würde es keine Mühe machen, auf diesen Platten 6 ccm Wasser unterzubringen. Damit würden etwa 90 (oder 46) Wasserbakterien und 7 bis 8 Paratyphusbazillen auf diese große Nährbodenoberfläche verteilt worden sein; es kann nun keine Schwierigkeit sein, unter 12 (oder 6) fremden Kolonien eine solche des Paratyphus aufzufinden. Nun kann man aber auch unter den einfachsten Laboratoriumsverhältnissen bei Zuhilfenahme des Brutschranks zum Trocknen auf diese großen Flächen weit mehr Wasser aufgeben, oder man kann zentrifugieren, dann dürfte man auch die günstigsten Resultate, die Hesse anführt (Versuch 31, S. 546: 300 ccm Pleißenwasser + 1700 ccm Kochsalzlösung, geimpft mit 140 Paratyphusbazillen, das ist 1 Paratyphusbacillus auf 19 [oder 9] Begleitbakterien), noch erreichen; es finden sich in 20 ccm der Ausgangsmischung



immer noch mehr als 1 Paratyphusbacillus. Jedenfalls ist es kaum angängig, für qualitative Untersuchungen auf Grund dieser Versuche die Filtrationsmethode als besonders leistungsfähig gegenüber den bisherigen Verfahren anzusprechen, und es ist unverständlich, wie Hesse nach der praktischen Untersuchung eines Brunnenwassers, in welchem er nach Aufbringen des Rückstoßes auf Drigalski- und Malachitgrünplatten weder Typhus- noch Paratyphusbazillen fand, es niederschreiben kann: „so wage ich mit aller Entschiedenheit zu behaupten, daß das Brunnenwasser zur Zeit der Untersuchung in 1500^{ccm} keine der fraglichen Krankheitserreger enthielt". Er stützt sich dabei auf die eben kritisierten Versuche und auf den negativen Ausfall der „zuverlässigen Malachitgrünmethode". Zudem wurde diese Untersuchung mit der ursprünglichen Methode ausgeführt, deren Unsicherheit Hesse in den späteren Mitteilungen selbst hervorhebt.

Trotzdem zweifle ich nicht daran, daß in bestimmten Fällen auch für qualitative Prüfungen die Filtrationsmethode Erleichterung bringen kann, so, wie ich wiederhole, wenn es sich in der Praxis notwendig erweist, in einem sehr keimarmen Wasser aus einem großen Volumen die Keime niederzuschlagen. Ein Erfolg für den Nachweis pathogener Bakterien ist damit natürlich noch nicht gesichert, nach wie vor muß das erstrebenswerte Ziel sein, die Saprophyten auszuschalten oder zurückzudrängen und die zu suchenden Keime in die günstigsten Bedingungen zu bringen. — Für die qualitative Leistung der Methode scheint mir der Zusatz von Kieselgur oder das Niederschlagen eines Gurmantels auf dem Filter kein so erheblicher Vorteil zu sein wie für die quantitative Untersuchung, da in der Kieselgurhaut pathogene Arten auf der Nährbodenfläche untypisch wachsen können, und da auch Saprophyten bei einem gewissen Trockengrade des Gurbelages zur Hautbildung neigen. Man wird daher größere Plattenserien zu beschicken haben oder aber mit dem Kieselgurzusatz unter 0·1^{grm} heruntergehen und besonders fein geschlämmtes Pulver verwenden müssen, wenn es sich überhaupt nicht lieber empfiehlt, für solche keimarme Wasser bei der qualitativen Prüfung die ursprüngliche Methode von Hesse ohne Gurzusatz zu verwenden. Man wird dann der Sicherheit halber zwei gut arbeitende Filter benutzen, durch die man ein größeres Quantum des verdächtigen Wassers hindurchsaugt; die Rückstoßflüssigkeit verteilt man dann auf die geeigneten Nährböden. Würde man eine Anreicherung der Rückspülflüssigkeit in einem flüssigen Medium versuchen wollen, so würde zweckmäßiger die Filtration des Wassers durch die Kieselgurhaut stattfinden, da die Beimengung eines chemisch genügend vorbehandelten Gurpulvers zu der Anreicherungsflüssigkeit kaum stören würde.



Inwieweit man den Faust-Heimschen Apparat zur Vervollkommnung der vorliegenden Methode oder überhaupt zur Wasseruntersuchung benutzen kann, wird Gegenstand einer besonderen Mitteilung sein. In seiner jetzigen Form kann er gewiß gelegentlich zur Einengung gute Dienste leisten, eine Sicherheit der Methodik ermöglicht er zurzeit nicht: dampft man Wasser auf der Nährbodenfläche ein, so vermehren sich die fremden Bakterien während der Dauer der Einengung stärker als z. B. zugesetzte Typhusbazillen; engt man auf Glasschalen ein, so ist am Schluß ebenfalls der Typhusbacillus in ungünstigerem Verhältnis anzutreffen. Sehr störend ist, daß die Temperatur im Apparat nicht konstant bleibt: gerade bei Ausschaltung von Wasserbakterien und für die Erhaltung oder Vermehrung von pathogenen Bakterien werden voraussichtlich ganz bestimmte Temperaturen, die vorerst auszuprobieren sind, von Wichtigkeit sein. Ein weiterer Übelstand, der noch abzustellen ist, liegt in der ungleichmäßigen Trocknung im Apparat: läßt man die Eindampfschalen oder Nährbodenplatten ruhig stehen, so kommt es an manchen Stellen zur stärksten Trocknung, was sicher nicht gleichgültig für das Leben der zu suchenden Keime sein kann. Man muß die Platten fortwährend drehen — vielleicht läßt sich das durch ein Uhrwerk oder eine sonstige Vorrichtung erleichtern. Man kann auch daran denken, dem einzuengenden Wasser Zusätze zu geben, die z. B. etwaigen Typhusbazillen günstigere Bedingungen gewähren (Galle od. dgl.), oder man kann Nährstoffzusätze versuchen, die als Schutz bei der Trocknung wirken, so daß man einmal stärker trocknen und auf die getrocknete Nährbodenoberfläche neue Flüssigkeit aufgeben darf.

Literatur-Verzeichnis.

1. Klein, E., 23. *Ann. Report of the Local Government Board.* 1893—1894. Suppl. S. 47. — Baumgartens *Jahresbericht.* 1895. Bd. XI. S. 284.
2. Chantemesse, M., *Gaz. hebd. de méd. et de chir.* 1901. Nr. 46. S. 543.
3. Jackson, *Hyg. Rundschau.* Bd. X. S. 212.
4. Nebel, A., *Archiv f. Hygiene.* 1903. Bd. XLVII. Hft. 1. S. 57.
5. Müller, *Diese Zeitschrift.* Bd. LI. S. 1.
6. Nieter, *Hyg. Rundschau.* Bd. XVI. S. 57.
7. v. Wunschheim, *Desinfektion.* 1909.
8. Schmidt, P., *Diese Zeitschrift.* Bd. LXV. 423.
9. Hesse, E., I. *Ebenda.* Bd. LXIX. S. 522. — II. *Ebenda.* Bd. LXX. S. 311. — III. *Deutsche militärärztl. Zeitschrift.* 1912. Hft. 7.
10. Plagge, *Veröffentlichungen a. d. Geb. des Militär-Sanitätswesens.* Bd. IX. 1895. S. 54.



[Aus dem Serotherapeutischen Institut in Mailand.]
(Vorstand: Prof. S. Belfanti.)

Über die Reinzüchtung des Bangschen Bacillus.

Von

Alberto Ascoli.

Der infektiöse Abortus, der in den nördlichen Ländern, in Skandinavien, England und auch in Österreich, Deutschland und Frankreich grassiert, bildet nach den Untersuchungen der Professoren Belfanti und Stazzi leider auch ein trauriges Kapitel unserer intensiven Viehzucht, wie z. B. in der Poebene. Das ätiologische Agens, das Corynebacterium, wurde schon im Jahre 1897 von Bang gemeinsam mit Stribolt in Dänemark isoliert und als solches durch die Untersuchungen von Holth und Wall im Jensenschen Institut bestätigt; es wurde als Ursache des infektiösen Abortus der Kühe auch in England von der englischen Kommission (Mac Fadyean und Stockmann) erkannt, in Ungarn von Preisz, in Österreich von Nowak, in Deutschland von Zwick, in Nordamerika von Mac Neals und Meyer.

Bei uns wurde das seuchenhafte Verwerfen, nachdem Prof. Stazzi die Aufmerksamkeit darauf gelenkt hatte, der Gegenstand experimenteller serodiagnostischer Untersuchungen von seiten des Prof. Belfanti; aus diesen geht hervor, daß man mittels der Komplementbindung und der Agglutination eine beginnende oder abgelaufene Infektion durch den Bacillus von Bang-Stribolt erkennen kann. Der indirekte experimentelle Nachweis und der positive mikroskopische Befund der Corynebakterien beseitigte jeden Zweifel daran, daß auch der infektiöse Abortus bei unseren Kühen auf denselben ätiologischen Faktor wie anderswo zurückzuführen sei.



Die Isolierung des spezifischen Keimes, welche trotzdem wünschenswert erschien, da nicht alle Formen des infektiösen Abortus auf einer Infektion mit dem Corynebacterium beruhen, wurde von uns an Material aus infizierten Ställen versucht, in dem die mikroskopische Untersuchung das Vorhandensein des Keimes ergeben hatte. Die ersten Versuche der Reinzüchtung nach der Originaltechnik von Bang (Aussaat auf Agar-Gelatineserum unter einer Schicht von Agar) waren aber nicht von Erfolg gekrönt. Dieser Mißerfolg tritt ja häufig ein, wenn die Untersuchung sich mit nicht frischem Material befaßt, an dem überdies Laienhände manipuliert haben, und kann daher nicht uns zur Last gelegt werden, wenn man bedenkt, daß der Prozentsatz der Mißerfolge bei verdächtigem Material, wenn es auch mit besonderen Kautelen entnommen wird, bei den Versuchen von Zwick im Kaiserl. Gesundheitsamte 50 Prozent beträgt.

Das Kulturverfahren von Bang und seinen Nachfolgern ist überdies ziemlich kompliziert, da hierbei wegen der Eigentümlichkeit des Bacillus, dessen Wachstum von einer bestimmten Zusammensetzung der gasförmigen Bestandteile der Luft abhängt, nur eine kleine Zone in der Mitte des Nährbodens die geeigneten Bedingungen zur Vermehrung bietet. Während die Vorschläge von Preisz die Schwierigkeiten nicht wesentlich vermindern halfen, nützte Nowak dagegen die bekannte Eigenschaft des Bacillus subtilis aus, das Wachstum anaerober Keime, wie z. B. des Tetanusbacillus zu begünstigen, um die Technik von Bang zu vereinfachen, indem er durch Symbiose mit dem Bacillus subtilis die für das Wachstum des Corynebacteriums günstigen atmosphärischen Bedingungen schuf. Beim Verfahren von Nowak erhält man nämlich die für das Wachstum vorteilhaften Verhältnisse dadurch, daß man die Aussaaten des Abortusbacillus unter eine Glocke neben eine gewisse Anzahl von mit einer Subtiliskultur geimpften Agarröhrchen bringt; indem sich die Rasen der letzteren im Thermostaten entwickeln, erzeugen sie nach Nowak unter der Glocke jene Verminderung des Sauerstoffes, die das Wachstum des Abortusbacillus begünstigt.

Glücklicherweise wurde vor kurzem auch die Hauptschwierigkeit, nämlich die mangelnde Empfänglichkeit der gewöhnlichen Laboratoriumstiere für die Infektion beseitigt, seitdem Theobald Smith, der geniale Vorkämpfer der Anaphylaxie und der Unterscheidung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose, nachweisen konnte, daß der Bangsche Bacillus sich auch im nicht trächtigen Kaninchen und Meerschweinchen vermehrt. Smith fand bekanntlich bei den experimentell infizierten Tieren bestimmte Veränderungen, speziell Knoten in der Milz, die zwar auf den günstigen Allgemeinzustand der Tiere ohne Einfluß blieben, trotzdem aber Reinkulturen des spezifischen Keimes lieferten.

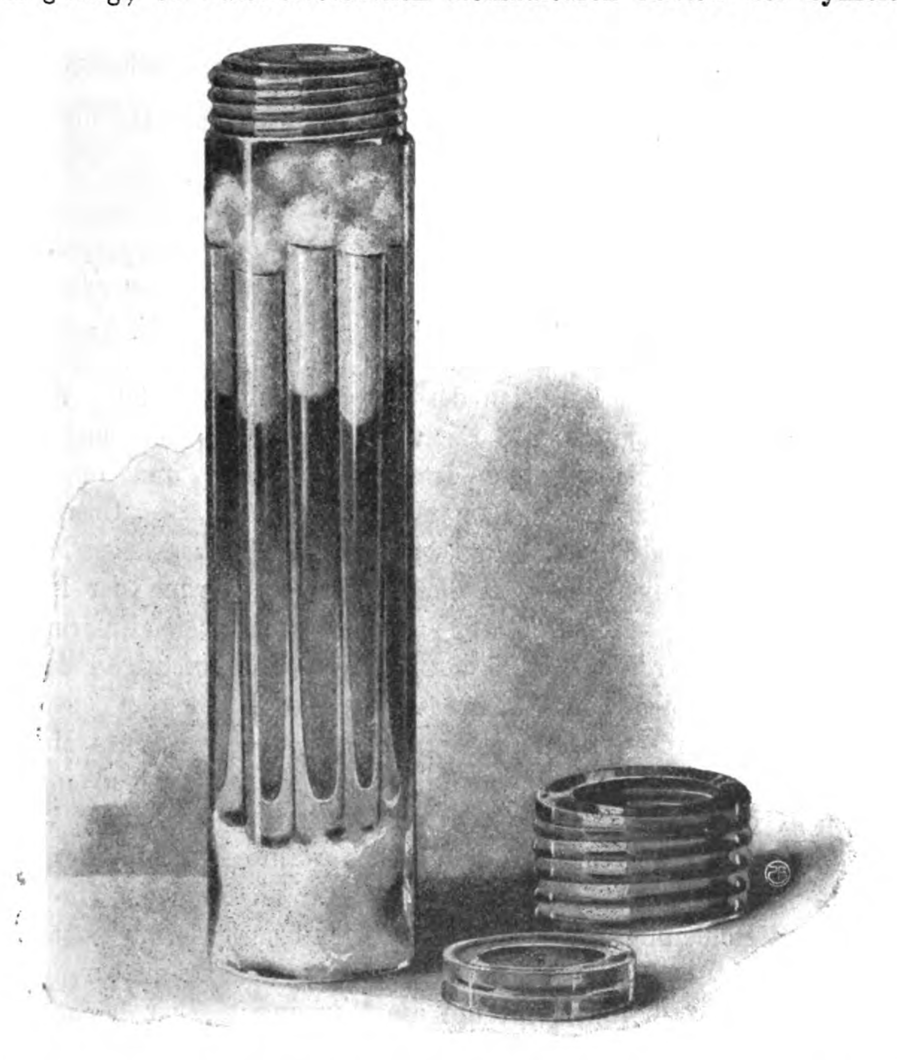
Wie Smith richtig hervorhebt, treten die Untersuchungen über das seuchenhafte Verkalben damit in ein neues Stadium ein, weil ihnen jetzt eine breitere experimentelle Basis gesichert wird; solange die gewöhnlichen nicht trächtigen Versuchstiere von dem Experiment ausgeschlossen blieben und dazu besondere, schwerer zu handhabende Kulturböden notwendig waren, konnte die Forschung über das seuchenhafte Verwerfen nicht weiteren Kreisen zugänglich sein. Die Bedeutung dieser neuen Beobachtungen, die von konstant positiven Bazillenbefunden bestätigt wurden, kann erst vollständig gewürdigt werden, wenn man sie mit den vor kurzem von Zwick veröffentlichten Resultaten vergleicht, der bei seinen Versuchen den neuen von Smith angegebenen Weg noch nicht einschlagen konnte. Obwohl auch diese Versuche mit der exaktesten Technik und im größten Maßstab, wie es die Laboratorien des Kaiserl. Gesundheitsamtes gestatten, ausgeführt wurden, fiel doch nur in 50 Prozent der untersuchten Fälle die Kultur des Abortusbacillus positiv aus, und nicht einmal in allen diesen erhielt man eine Reinkultur. Bei weniger gut konserviertem Material, wie bei den Eihäuten und dem Uterus wurden nur sechs positive Befunde unter 14 untersuchten Fällen erzielt, und mit Vaginalschleim fiel die Untersuchung negativ aus.

Tatsächlich war es uns auch bei Anwendung der primitiven Technik der direkten Isolierung nach der Bangschen Methode aus Material, das uns unter nicht ganz einwandfreien Bedingungen zukam, nicht gelungen, den Abortusbacillus zu isolieren; sobald wir jedoch das von Smith angegebene Verfahren einschlugen, gelang es uns regelmäßig Reinkulturen des Abortusbacillus zu erhalten. Die einfache Aussaat vom infizierten Meerschweinchen auf gewöhnlichen Agar (der einige Tropfen Pferdeserum im Kondensationswasser enthielt) führte uns rasch zum Ziele, indem wir die Kulturen nach einer von uns ersonnenen Modifikation des Nowakschen Verfahrens aufgehen ließen.

Diese Modifikation war uns durch einige Beobachtungen während der Vorversuche aufgedrängt worden, als wir zur Einübung die Reinzüchtung des Bangschen Bacillus aus den Organen von Meerschweinchen versuchten, die mit einem uns von Prof. Jensen gelieferten Stamm von Abortusbazillen infiziert waren.

Während dieser Versuche wollten wir dem Übelstande des langsamen Wachstums des Bangschen Bacillus abhelfen, weswegen er so leicht von allfälligen Verunreinigungen überwuchert wird, und versuchten seine Wachstumsgeschwindigkeit zu steigern, indem wir den Bacillus subtilis durch andere Keime ersetzten, in der Hoffnung, daß diese die Entwicklung mehr begünstigen würden. Nach einigen fruchtlosen Versuchen fanden wir den Anthraxbacillus als zu diesem Zwecke geeignet, weil in

den Glasglocken, unter denen die Symbiose mit dem Milzbrandbacillus stattfand, das Wachstum des Abortusbacillus rascher und reichlicher ausfiel, und der Prozentsatz der Reinkulturen größer wurde. Die Vorliebe für die Verwendung des Milzbrandbacillus wurde dann noch bestärkt, als es uns gelang, in Parallelversuchen Reinkulturen mittels der Symbiose



mit dem Milzbrandbacillus in einem Falle zu erzielen, indem die Isolierung mit Hilfe des Bacillus subtilis nicht gelungen war.

Wir haben uns auch bemüht, die von Nowak verwendeten Glasglocken durch Gefäße, die praktischer in der Form und handlicher im Gebrauch sind, zu ersetzen. Nach einigen Versuchen mit Gefäßen mit eingeschliffenem Deckel fanden wir eine geeignete Form in gewissen zylindrischen Gläsern, wie sie zur Konservierung von Spargeln verwendet werden. Diese Gläser verschmälern sich nach oben derart, daß der Deckel



den Hals von außen umfaßt, während ein Gummiring, der diesem aufliegt, dem Rand des Deckels als Polster dient; eine Metallkappe mit Windungen, die in die entsprechenden Windungen des Halses passen, sichert den Verschluß, indem sie den Rand des Deckels an den Rand des Glases preßt. Die Gläser mit 700 ccm Inhalt sind 26 cm hoch und 6 cm weit und fassen 10 Eprouvetten; eine Lage Watte am Boden füllt den übrigen Raum aus und dient den Eprouvetten als Unterlage (siehe Textfigur).

Die Technik, die zur Reinzüchtung des Bangschen Bacillus aus dem Material von infizierten Meerschweinchen angewendet wurde, war folgende:

Das verdächtige Ausgangsmaterial wurde den Meerschweinchen subkutan, intramuskulär, intraperitoneal und intravenös eingespritzt. In der Regel infizierten wir bei jeder Untersuchung mindestens sechs Meerschweinchen, zwei subkutan oder intramuskulär, zwei intraperitoneal, zwei intravenös; von jedem Paare injizierten wir einem Tier eine dichte, dem anderen eine äußerst verdünnte Emulsion des Untersuchungsmaterials. Wir hatten bei der Benutzung je einer Serie vom Meerschweinchen und der Anwendung der verschiedenartigen Impfungsmethoden und verschiedenen Verdünnungen zweierlei Ziele im Auge: einerseits das Überleben des einen oder anderen Tieres, selbst bei Verwendung zersetzten Materiales, zu sichern, andererseits aber tunlichst die Vermehrung der Infektionserreger durch die größere Menge und das raschere Eindringen des Materials in den Kreislauf zu fördern. Beides sind wichtige Faktoren für den praktischen Wert der Diagnose. In der Tat hatten unsere Maßnahmen Erfolg, insofern als in zwei Fällen, in denen das Material in vollkommen zersetztem Zustande ankam, die Diagnose bloß infolge des Überlebens eines der mit der verdünnten Emulsion subkutan injizierten Meerschweinchens gestellt werden konnte, während alle anderen innerhalb 24 Stunden nach der Einimpfung zugrunde gingen. Die Möglichkeit einer Beschleunigung ist hingegen vom Konservierungszustande und dem Keimreichtum des Untersuchungsmaterials abhängig, aber der Kunstgriff, hohe Dosen zu injizieren, um die Wirkung rascher herbeizuführen, erscheint durch Versuche gerechtfertigt, bei denen nach intraperitonealer und intravenöser Injektion von dichten Bakterienrasen die Reinzüchtung schon nach wenigen Tagen sowohl aus dem Blute wie aus der Milz gelang, während sie unter denselben Bedingungen nicht ebenso schnell zu erzielen war, wenn das injizierte Material spärlich war (Emulsion einer keimarmen Milzaufschwemmung eines infizierten Meerschweinchens).

Nach Ablauf einer Zeit, die bei unseren ersten Versuchen zwischen 2 und mehr Monaten nach der Injektion schwankte, die aber dank der verbesserten Technik auf 1 Monat und noch weniger reduziert werden

konnte, opferten wir ein Meerschweinchen der Gruppe. Das Blut wurde in Eprouvetten aufgefangen, und die Sektion sofort durchgeführt, wobei die vorhandenen Befunde vermerkt wurden; diese waren in der Regel auf eine Schwellung der Milz beschränkt, in der sich zuweilen die von Smith beobachteten Knötchen fanden; gelegentlich fehlten diese, wie auch oft die Milzschwellung fehlte oder unbedeutend war. Nicht selten wies der Befund andere pathologische Prozesse auf, die für das gleichzeitige Bestehen oder Vorherrschen einer Mischinfektion sprachen. Hierauf wurde sofort an die Aussaat gegangen, zu der wir die einfachsten Nährböden, nämlich den gewöhnlichen Schrägagar verwendeten, dem, wie erwähnt, einige Tropfen Pferdeserum hinzugefügt worden waren. Wir hatten nämlich bei den Vorversuchen feststellen können, daß dieser Serumzusatz die Entwicklung und das Wachstum der Abortusbazillen fördert. Wir bemühten uns die Aussaat reichlich zu gestalten; wir verwendeten dazu in der Regel ein mindestens linsengroßes Stückchen Milz, weil diese den größten Prozentsatz von positiven Resultaten zu ergeben schien; dieses wurde im Kondensationswasser aufgeschwemmt, dann auf der Oberfläche des Agars verstrichen und in der Mitte deponiert.

Die so beschickten Agarröhrchen wurden ohne weiteres in die oben beschriebenen Zylindergläser eingeführt, von denen, wie gesagt, jedes ungefähr zehn Agareprouvetten fassen kann. Bei den Vorversuchen war die Verhältniszahl zwischen den mit Abortusbazillen und mit Milzbrandbazillen beschickten Agarröhrchen im einzelnen ausprobiert worden, indem alle möglichen Kombinationen angestellt wurden: beginnend mit 1 Röhrchen Abortusbazillen und 9 Röhrchen Milzbrandbazillen bis zu 9 Röhrchen Abortusbazillen und 1 Röhrchen Milzbrandbazillen. Aus diesen Versuchen war hervorgegangen, daß das Verhältnis von 1 oder 2 Röhrchen Milzbrandbazillen auf 9 bzw. 8 Röhrchen Abortusbazillen für ein reichliches Wachstum nicht genüge, während die sonstigen Kombinationen günstiger waren, am günstigsten, wenn 1 bis 5 Abortuskulturen auf 9 bis 5 Milzbrandkulturen kamen. Darum haben wir bei der Verteilung der beschickten Röhrchen dieser Verhältniszahl den Vorzug gegeben, wobei wir uns bemühten, die Röhrchen mit Abortusbazillen so zu lagern, daß die Oberfläche des Agars nach außen gewendet war, um die Beobachtung jederzeit zu ermöglichen, und eventuelle Verunreinigungen durch Zeichen an der Außenwand des Gefäßes, entsprechend der Oberfläche jedes einzelnen Agarröhrchen, notieren zu können. Dies ist ein nicht zu unterschätzender Vorteil gegenüber den Glasglocken, weil man jedes Röhrchen von Tag zu Tag beobachten kann, ohne das Gefäß öffnen zu müssen; die Verunreinigungen, die in den ersten Tagen auftreten, werden so ohne weiteres ausgeschieden, und die Abortuskolonien, die sich immer erst einige



Tage später entwickeln, sind so leicht zu unterscheiden. In den Gläsern beobachtet man anfangs das Wachstum in den mit Milzbrandbazillen beschickten Röhrchen, sowie in denen mit Verunreinigungen, wobei in den ersten Tagen das Verhältnis der Gase der Luft hergestellt wird, das für die Entwicklung des Abortusbacillus paßt; nach 3 oder 4, oft erst nach 5 oder mehr Tagen zeigt sich das Wachstum der Kolonien des Abortusbacillus, die sich im Beginn an ihrem tauförmigen Aussehen erkennen lassen; später zeigen die Rasen eine konsistentere Beschaffenheit, und die einzelnen Kolonien nehmen eine gegen die Mitte zu ausgesprochen gelbbraune Färbung an.

Während der zur Entwicklung der Kulturen notwendigen Frist wurden einige Vorversuche ausgeführt, die eine wichtige diagnostische Unterstützung darstellen. Während die mikroskopische Untersuchung der Milz und des Blutes keine brauchbaren Anhaltspunkte lieferte, gaben dagegen die diagnostischen Reaktionen mit dem Serum, das, wie erwähnt, bei der Tötung der Meerschweinchen gewonnen wurde, recht bemerkenswerte Resultate. Besonders die Agglutination, aber auch die Komplementbindung — beide unmittelbar nachdem sich das Serum abgeschieden hatte ausgeführt — ergaben deutlich positive Resultate zu einer Zeit, als die Kulturversuche noch negativ ausfielen. Die Agglutination mit auf 1:100 verdünntem Serum war dem geübten Auge schon nach ein paar Stunden Aufenthalt im Brutschrank bemerkbar, wenn sie am Tage der Blutentnahme selbst ausgeführt wurde; las man die Resultate nach 12 bis 24 stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur ab, so war die Agglutination bei Verdünnungen von 1:200 und bei vorgeschrittener Infektion bis zu 1:1000 und darüber hinaus positiv. Das Agglutinationsvermögen des Serums scheint jedoch etwas labil zu sein, denn es erwies sich schon nach einer Woche oder noch früher deutlich abgeschwächt. Die Komplementbindung bestätigte die Ergebnisse der Agglutination; sie fiel mit geeigneten Antigenen, bei Serumdosen bis zu 0·005, positiv aus, war aber zuweilen nicht einmal bei der Dosis 0·1 deutlich und verlangte besondere Vorsichtsmaßregeln, um erkannt zu werden. So war es in einigen Fällen, um sie wahrzunehmen, notwendig, die Proben aus dem Brutschrank zu entnehmen, sobald Hämolyse in den Kontrollröhrchen mit normalem Meerschweinchenserum eingetreten war.

Diese Eigenschaften des Serums dienten außer zur Orientierung auch noch zur Identifizierung der Kulturen. Die Agglutinationsproben bilden nämlich neben den schon angegebenen Eigenschaften und der mikroskopischen Untersuchung der Kulturen ein ausgezeichnetes Hilfsmittel bei der Identifizierung des Abortusbacillus; dazu kann das im Serum der infizierten Meerschweinchen nachgewiesene Agglutinationsvermögen benutzt

werden. Wir zogen es jedoch vor, die Identifizierung mit Immunseris zu sichern und verwendeten, um nicht durch eine geringere Agglutinierbarkeit der frisch isolierten Stämme irregeführt zu werden, in der Regel ein Serum von in unserem Institut immunisierten Pferden, das ein Agglutinationsvermögen bis zu 1:4000 bis 6000 aufwies. Infolge einiger Beobachtungen, die darauf schließen lassen könnten, daß bei Verdünnungen von 1:100 einerseits paradoxe Phänomene, andererseits mit normalem Serum nicht spezifische Agglutinationen vorkommen, verwendeten wir zur Identifizierung des Abortusbacillus die Verdünnung 1:1000 sowohl für das Immunserum wie für das Kontrollserum. Wir schwemmten eine Öse in 1^{ccm} dieser Verdünnungen in den besonderen Eprouvetten, die wir zur Agglutination verwenden, auf und lasen die Resultate am folgenden Morgen ab. Die Richtigkeit der Befunde wurde kontrolliert, teils durch Kontrollproben mit sicheren Abortusstämmen aus anderen Laboratorien (Jensen, Zwick usw.), teils durch Nachprüfung der Identifizierung mit einem agglutinierendem Serum von hohem Titer, das von dem Institute von Prof. Zwick geliefert worden war.

Natürlich führten wir neben der Agglutination immer auch die mikroskopische Untersuchung aus, aber nicht selten zerstreuten erst die Agglutinationsversuche die letzten Zweifel über die Natur der isolierten Keime. Auch die komplementbindende Wirkung der aus den reingezüchteten Stämmen gewonnenen Antigene gegenüber spezifischem Abortusserum wurde in einigen Fällen herangezogen; dieselbe bildet aber kein so praktisches Hilfsmittel bei der Reinzüchtung wie die Agglutination.

Hingegen erwies sich die Schwierigkeit, den Abortusbacillus an der Luft zum Wachsen zu bringen, bei der Erkennung der Bazillen nützlich; wir beschickten zwei Agarröhrchen, von denen eines ohne weiteres in den Thermostaten kam, das andere erst nachdem wir in der beschriebenen Weise die geeignete Zusammensetzung der Gase der umgebenden Luft gesichert hatten. Das spärliche oder ganz ausbleibende Wachstum in dem einen im Vergleich zu der üppigen Vermehrung im anderen lieferte eine vollkommene Bestätigung der mit den anderen Hilfsmitteln erhaltenen Resultate.

Mittels der geschilderten Vorgänge gelang es uns, den Abortusbacillus zu isolieren und zu identifizieren, und zwar sowohl bei Meerschweinchen, die mit einem dem Institute von Prof. Jensen gelieferten Stamm experimentell infiziert waren, als auch bei solchen, die mit Abortusmaterial geimpft waren, das uns zur Untersuchung zugewiesen wurde. Dieses umfaßte drei Labmagen von Föten, den Inhalt des Labmagens und Darmes von einem Kalbe und zwei Plazenten, aus einem infizierten Stalle die eine, die andere aus einem zu Versuchszwecken infiziertem Schafe



stammend. In allen diesen Fällen handelte es sich um sicheren infektiösen Abortus, festgestellt auf Grund der klinischen, tierärztlichen oder experimentellen Daten. Das Material aus dem Labmagen und dem Darme war in gutem Konservierungszustande, wenn es auch zum Teil erst nach 48 Stunden und auch 4 Tage nach der Entnahme verarbeitet werden konnte. Die Plazenten jedoch waren stark zersetzt, und ein einziges Meerschweinchen von jeder Serie blieb am Leben, während von den mit Labmagen und Darmmaterial injizierten nur wenige zugrunde gingen, und die größere Anzahl am Leben blieb. Übrigens scheint es, daß die intravenöse Injektion diejenige ist, die die meisten Opfer sofort oder bald nach der Injektion fordert.

In der größeren Zahl der Fälle wurden die Kulturen aus der Milz angelegt und ergaben fast ohne Ausnahme positive Resultate. Wenn auch ein oder das andere Agarröhrchen steril blieb oder verunreinigt war, so daß die Isolierung mißlang, erhielten wir doch in der Mehrzahl der Fälle Abortusbazillen in Reinkulturen, entweder sofort oder nach wiederholtem Abimpfen der verdächtigen Kolonien.

Ich beschickte in allen Fällen so viel Agarserumröhrchen als ich konnte, wobei ich fast die ganze Milz benutzte, in der Regel nicht weniger als zehn, öfters mehr, verwendete demzufolge auch eine entsprechende Anzahl Zylinder, gewöhnlich drei bis vier.

Außer aus der Milz versuchte ich die Reinzüchtung auch aus dem Blute mit positivem Ergebnis; aber der Prozentsatz der Erfolge war geringer und das Wachstum fehlte auch dort, wo es aus der Milz in 100 Prozent der Fälle eintrat. Aus anderen Organen, wie aus der Nebenniere, der Niere, dem Herzen konnten wir ebenfalls Reinkulturen erhalten.

Vollständig erfolglos fielen hingegen die Kulturversuche und die serodiagnostischen Untersuchungen bei einer Serie Meerschweinchen aus, die mit Material (Labmagen und Plazenta) von einem Fall von Abortus geimpft waren, welches uns mit der Bemerkung zugeschickt worden war, daß die betreffende Kuh kurz vorher an Maul- und Klauenseuche erkrankt war, so daß der Eigentümer selbst Zweifel über den epidemischen Charakter des Falles hegte, die nach unserem negativen Befund berechtigt erschienen.

Nachdem wir mit dem Bacillus durch Isolierung aus speziell zu diesem Zweck getöteten Meerschweinchen näher bekannt geworden waren, versuchten wir ihn auch aus experimentell mit Abortusbazillen infizierten und spontan verendeten Meerschweinchen zu züchten. Mittels der angegebenen Technik gelang es uns ohne Schwierigkeiten, den Abortusbacillus aus infizierten, spontan verendeten Meerschweinchen zu gewinnen. Überdies konnten wir die Diagnose auf Mischinfektion stellen, wo anstatt des Abortusbacillus andere Keime als unmittelbare Todesursache anzusprechen waren.



In solchen Fällen lieferte die Sektion in der Regel pathologisch-anatomische Befunde von Veränderungen, die sich mit der Infektion durch das Corynebacterium anscheinend nicht vereinbaren ließen; wir legten dann in solchen Fällen, in denen wir eine Mischinfektion vermuteten, neben den für die Abortusbazillen spezifischen auch aerobe Kulturen an und fanden unseren Verdacht bestätigt, indem wir neben den Abortusbazillen Kolonien und Kulturen jener Keime erhielten, denen der letale Ausgang zuzuschreiben war; dieser wäre ja sonst in Anbetracht des Überlebens der anderen, genau ebenso wie die verendeten, infizierten Meerschweinchen unerklärlich gewesen. In der Überzeugung, daß es der bakteriologischen Untersuchung gelingt, die nicht den Abortusbazillen zuzuschreibenden Todesfälle aufzuklären, fühlen wir uns berechtigt, die Abortusbazillen in jenen Serien von Fällen als Todesursache anzusprechen, welche keine für das seuchenhafte Verwerfen charakteristischen pathologisch-anatomischen Befunde aufwiesen, wenn sie durchweg Reinkulturen des Corynebacteriums lieferten. Es gingen ausnahmslos in wenigen Wochen, ausschließlich infolge von bakteriologisch sichergestellter Infektion mit Corynebakterien, ein alle bis dahin intravenös mit Reinkulturen von Abortusbazillen injizierten Meerschweinchen, dagegen gingen die mit demselben Stamm subkutan injizierten Meerschweinchen, falls keine Komplikationen eintraten, nicht zugrunde. Diese letale Wirkung auf Meerschweinchen ist meines Wissens bisher nicht beobachtet worden; sie erscheint uns für die Lösung verschiedener Probleme berufener als die pathogene Wirkung auf Ratten, und wir behalten uns daher vor, diese Frage weiter zu studieren.

Im Verlaufe unserer Untersuchungen fielen uns die spärlichen positiven Ergebnisse der Kulturen aus dem Blute im Verhältnis zu der Regelmäßigkeit auf, mit der die Isolierung aus der Milz auch bei an Mischinfektion verendeten Meerschweinchen gelang. Die Annahme, daß dieses verschiedene Verhalten durch den Gasaustausch zwischen dem auf dem Agar zur Aussaat deponiertem Milzstückchen und der umgebenden Luft bedingt sei, erwies sich jedoch als unhaltbar, da der Zusatz von normaler Milz zu mit Blut beschickten Röhrchen nicht imstande war, die Abortusbazillen zur Entwicklung zu bringen, während bei den Röhrchen, die mit infizierter Milz von demselben Tiere beschickt waren, üppiges Wachstum eintrat. Trotzdem sahen wir uns mit Rücksicht auf den von Tarozzi hervorgehobenen Einfluß der überlebenden Gewebe auf die Entwicklung der anaerobischen Keime und in Anbetracht der Wirkung, die die Gewebsatmung auf die Gase der Umgebung ausüben dürfte, dazu veranlaßt, einige mit infizierten Milzstückchen beschickte Agarröhrchen zuzuschmelzen. Das Resultat war sehr zufriedenstellend, da die Vermehrung der Abortus-

bazillen nun, wenn nicht rascher, mindestens ebensogut eintrat, wie in unseren Zylindergläsern, in denen die Agarröhrchen in Symbiose mit dem Anthraxbacillus abgeschlossen waren. Die fördernde Wirkung des überlebenden Gewebes auf die Entwicklung des Bangschen Bacillus konnte auch direkt gezeigt werden, indem man das Wachstum in den ohne Milz zugeschmolzenen Röhrchen mit denen nach Zusatz eines Stückchens normaler Milz verglich.

Diese Versuche stellten zwar die günstige Wirkung des überlebenden Gewebes außer Frage, gestatteten aber außerdem auch die Beobachtung von Holth zu bestätigen, daß der Bangsche Bacillus sich auch in den einfach zugeschmolzenen Röhrchen im Vergleich zu den offenen besser entwickelt. Der Vorgang des Zuschmelzens an der Flamme ergab uns in der Tat positive Resultate bei der Isolierung des Bangschen Bacillus aus der Milz infizierter Meerschweinchen, nicht nur wenn das infizierte Stückchen darin verschlossen blieb, sondern auch, wenn es nach der Aussaat wieder entfernt oder durch ein Stückchen normale Milz ersetzt wurde. Der einfache Kunstgriff des Zuschmelzens an der Flamme stellt nämlich in der bequemsten Weise den für die Entwicklung des Bangschen Bacillus unerläßlichen Luftabschluß her; verbindet man ihn mit der Wirkung des überlebenden Gewebes, so werden damit die für das Wachstum des Keimes günstigsten Verhältnisse der Symbiose geschaffen. Dieses Verfahren leistete uns auch bei der direkten Untersuchung des infizierten Materials von spontanem Abortus gute Dienste. Seine Vorteile bei der Isolierung des Bangschen Bacillus bewährten sich bei der direkten Reinzüchtung aus dem Inhalte des Labmagens und des Darmes, welche bis zum 5. Tage nach der Entnahme gelang, insofern letztere steril erfolgt war.

Bei verunreinigtem Material waren die Ergebnisse der direkten Untersuchung negativ; in solchen Fällen ist man auf die indirekte Untersuchung angewiesen, auf den Weg der Impfung von Meerschweinchen. Allerdings sind auch die Impfungen nicht immer von Erfolg begleitet. Wenn bei zweien unserer Versuchsreihen der Mißerfolg nur durch das Überleben eines einzigen Tieres vermieden wurde, so muß man mit der Möglichkeit rechnen, daß die Versuche auch ganz fehlschlagen können, wenn die Zersetzung des Materials so weit vorgeschritten ist, daß kein Tier mehr am Leben bleibt. Übrigens konnten wir im Verlaufe unserer Untersuchungen feststellen, daß, wenn auch selten, doch selbst bei Meerschweinchen, die mit bakteriologisch sichergestelltem Material aus Fällen von seuchenhaftem Verwerfen geimpft waren, negative Ergebnisse zu verzeichnen waren. Schaltet man die Fälle aus, bei denen mit Rücksicht auf den positiven Ausfall der Agglutination mit dem Serum der geimpften Meerschweinchen die Reinzüchtung mißlang, weil entweder zu wenig

Keime vorhanden waren, oder die Methode wegen der Kürze des nach der Impfung verflossenen Zeitraumes versagen mußte, so bleiben dennoch einige Meerschweinchen übrig, bei denen wegen Fehlens jeder spezifischen Reaktion und wegen des negativen Ergebnisses der Kulturen sich die Annahme aufdrängt, daß entweder die Vermehrung der Bazillen überhaupt ausblieb, oder ein Ausgang in Heilung eintrat.

Vom praktischen Standpunkt aus ist es jedoch wichtig zu betonen, daß in Wirklichkeit, dank der von uns angegebenen Kunstgriffe, nämlich eine genügende Anzahl Meerschweinchen zu injizieren, sie der Reihe nach in steigenden Abständen nach der Impfung zu töten, längere Zeit bei den Fällen verstreichen zu lassen, wo bloß eines am Leben bleibt, wir stets der Erwartung entsprechende Resultate aufzuweisen hatten, d. h. positive an Material von seuchenhaftem Verwerfen, negative, wenn diese Infektion auszuschließen war. Die Impfung der Meerschweinchen bietet jedoch neben ihren unleugbaren Vorteilen auch den praktisch nicht zu unterschätzenden Nachteil, eine rasche Diagnose nicht zuzulassen. Man wird diese beschleunigen können, wenn man das frühzeitige Auftreten der Immunitätsreaktionen, speziell der Agglutination, bei den geimpften Meerschweinchen richtig verwertet.

Natürlich muß man den Fall ausschließen können, daß in der Zucht der Laboratoriumstiere Spontaninfektionen mit Abortus vorkommen, wie sie von Surface beobachtet wurden; im Verlaufe unserer Untersuchungen jedoch konnten wir niemals positive kulturelle oder serodiagnostische Befunde bei anderen Meerschweinchen als bei den experimentell mit Abortusmaterial infizierten verzeichnen.

Mailand, April 1913.



Literatur-Verzeichnis.

Die Literaturhinweise bis zum Jahre 1912 finden sich größtenteils bei:

Zwick u. Zeller, Über den infektiösen Abortus der Rinder. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XLIII. Hft. 1.

Siehe weiter:

Smith u. Fabyan, Über die pathogene Wirkung des Bacillus Abortus Bang. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LXI. S. 549.

Belfanti, Intorno al valore die alcuni nuovi mezzi di diagnosi nell'aborto epizootico. *La Clin. Vet.* 1912. p. 97. — *Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten der Haustiere.* Bd. XII. Hft. 1.

Stazzi, L'aborto epizootico e la vaginite granulosa. *La Clin. Vet.* 1912. p. 250.

Gentili, La moria dei vitelli e l'intervento sieroterapico. *Ebenda.* 1912. p. 914.

Melvin, The bacterium of contagious abortion of cattle demonstrated to occur in milk. *The Vet. Journ.* 1912. p. 526.

De Jong, Über einen Bacillus der Paratyphus B-Enteritisgruppe als Ursache eines seuchenhaften Aborts der Stute. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. LXVII. Hft. 3.

F. M. Surface, Bovine infectious abortion epizootic among guinea pigs. *The Journ. of Infect. Diseases.* Bd. XI. Nr. 3. p. 464.

O. Schreiber, Studien über das seuchenhafte Verwerfen. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift.* 1913. Nr. 3.

Zwick u. Wedemann, Biologische Untersuchungen über den Abortusbacillus. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XLIII. Hft. 1.

Szymanowski, Über die Anwendung der Präzipitationsmethode zur Diagnostik des seuchenhaften Verkalbens. *Ebenda.* Bd. XLIII. Hft. 1.

Meyer, Contagious abortion of cattle. *Proc. of the Pathol. Soc. of Philadelphia.* 1912. Bd. XIV.

Stadley and Beach, Results with the complement fixation test in the diagnosis of contagious abortion of cattle. *Amer. Vet. Rew.* 1912. Vol. XLII. p. 43.

Panisset, Le diagnostic de l'avortement épizootique des bovidés par les méthodes biologiques. *Rev. gén. Méd. Vét.* T. XX. p. 665.

Zwick u. Krage, Über die Ausscheidung des Abortusbacillus mit der Milch infizierter Tiere. *Berliner tierärztliche Wochenschrift.* 1913. Nr. 3.

G. Tarozzi, Sulla possibilità di coltivare facilmente all'aria in cultura pura i germi anaerobici. *Atti R. Accad. Fisiocritici.* 1905. Vol. XV.

Derselbe, Ulteriori osservazioni sulla cultura aerobica dei germi anaerobici. *Ebenda.* 1905. Vol. XVII.

Derselbe, Sulla biologia di alcuni germi anaerobici e su di un facile mezzo di cultura dei medesimi. *Riforma Medica.* Vol. XXI. Nr. 6—7—8.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rostock.]
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer.)

Über die Wirkung des Antiformins auf Tuberkelbazillen.

Von

Stabsarzt Dr. **Donges,**
kommandiert zum Institut.

Über die Einwirkung des Antiformins auf die Vitalität der Tuberkelbazillen haben Uhlenhuth und Xylander in ihrer Veröffentlichung: „Untersuchungen über Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel" angegeben, daß „das Antiformin für die Tuberkelbazillen kein absolut indifferentes Mittel ist, das bei intensiver Einwirkung auch diese Mikroorganismen in ihrer Entwicklungsfähigkeit schädigt, ja vielleicht auch weniger resistente Exemplare abtötet".

Uhlenhuth und Xylander fanden, daß — sowohl für den Typus humanus als auch für den Typus bovinus — in wäßrigen Aufschwemmungen von Tuberkelbazillenkulturmasse mit 20 prozentiger Antiforminmischung die Tbc.[1] zwischen 6 bis 12 Stunden avirulent wurden; hinsichtlich der Resistenz der Tbc. im Sputum stellten sie fest, daß die Tbc. auch durch konzentrierte Lösungen von Antiformin nach 6 Stunden nicht abgetötet wurden; nach ihrer Ansicht bewahrt das Eiweiß des Sputums die Tbc. mehr oder weniger vor der schädigenden Wirkung. Im Gegensatz dazu konstatierte Schmitt, daß bereits nach 2 Minuten langem Aufenthalt von Tbc.-Kulturmasse in 5 prozentiger A. L. eine Abtötung erfolgt war, so daß der Tierversuch negativ ausfiel.

Schmitt und Pröscholdt geben an: das 15 prozentige Antiformin und auch bereits das $2^1/_2$ prozentige, dieses allerdings bedeutend weniger,

[1] Im folgenden bedeuten: Tbc. = Tuberkelbazillen, A. L. = Antiforminlösung.



schädigte bei mehrstündiger Einwirkung die Vitalität der in Lungenauswürfen,' Gebärmutterausflüssen und Eutersekreten enthaltenen Tbc. sehr erheblich; es trat die tuberkulöse Erkrankung vielfach stark behindert ein, was wesentliche Verzögerung der Diagnosestellung zur Folge hatte, und oft wurden die Tbc. abgetötet, so daß Impftuberkulose nicht mehr zustande kam. Diese Schädigungen traten dann mitunter nicht zutage, wenn das Material sehr viele Tbc. enthielt, so daß man diese bereits bakterioskopisch nachweisen konnte; sie waren um so ausgesprochener, je weniger reich das Material an Tbc. war.

Die Unstimmigkeit der Resultate bezüglich Resistenz der Tbc.-Kulturen beruhen nach Schmitt und Pröscholdt vielleicht darauf, daß die Untersuchungen Uhlenhuths, seiner Mitarbeiter und Nachfolger anscheinend nicht mit dem hauptsächlich für die Gärindustrie bestimmten Rohantiformin vorgenommen worden sind, sondern mit dem neueren Antiformin für pharmazeutische und therapeutische Zwecke.

Eine große Differenz zeigen die Untersuchungsresultate Uhlenhuths u. a. einerseits und Schmitt's u. a. andererseits bezüglich Resistenz der Tbc. in Phthisikersputis und Lungenauswürfen, Gebärmutterausflüssen, Eutersekreten der Rinder — bei ersteren noch keine Abtötung der Tbc. vom Typus humanus nach 6 stündiger Einwirkung von konzentriertem Antiformin, bei letzteren in Tbc.-armem Material Abtötung und Vitalitätsschädigung der Tbc. vom Typhus bovinus bereits bei mehrstündiger Einwirkung von $2^1/_2$ prozentigem und 15 prozentigem Antiformin.

Uhlenhuth u. a. verwendeten frisches, in Wasser aufgefangenes Sputum für die ganze Versuchsreihe; Schmitt u. a. wandten zwei parallel laufende Versuchsreihen an, einmal mit unverdünntem Infektionsmaterial, und ferner mit verdünntem Infektionsmaterial. Das unverdünnte Material waren Lungenauswürfe, die im Mörser sorgfältig verrührt, dann 45 Minuten lang mit der 9 fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung maschinell geschüttelt und durch Gaze filtriert waren; das verdünnte Material war im Verhältnis 1 : 9 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Beim unverdünnten Material wurde weder durch die $2^1/_2$ stündige Einwirkung von 15 prozentiger A. L., noch durch die 1 stündige Einwirkung von $2^1/_2$ prozentiger A. L. irgend eine Virulenzabschwächung der Tbc. festgestellt; dagegen wurde das verdünnte Material bereits durch dieselbe Behandlung mit $2^1/_2$ prozentiger und 15 prozentiger A. L. infektionsuntüchtig.

Ich habe für die beiden Typen des Tbc. — Typus humanus und Typus bovinus — vollkommen analoge Versuchsbedingungen und Versuchsanordnungen gewählt, um eine Vergleichung betreffs Einwirkung des Antiformins auf die Infektionskraft der Tbc. in Phthisikersputis und in Lungenauswürfen und Gebärmutterausflüssen von Rindern anzustellen.



Ich verwendete als Typus humanus in wenig Wasser aufgefangene Sputa von an hochgradiger Lungentuberkulose erkrankten Phthisikern aus der hiesigen medizinischen Klinik, als Typus bovinus Lungenauswürfe und Gebärmutterausflüsse von Rindern, die auf der hiesigen Quarantänestation bzw. im hiesigen Schlachthof wegen hochgradiger Tuberkulose beanstandet und notgeschlachtet wurden. In dem verwandten Material waren bakterioskopisch reichlich Tbc. gefunden worden. Eine Verunreinigung und Beimengung bei den Rinderlungenauswürfen von Gras- und Mistbazillen war auszuschließen dadurch, daß nur die in den Bronchien sitzenden Auswurfmassen nach der Sektion vorsichtig und steril entnommen wurden.

Das Material war von sehr hoher Infektionskraft. Die Kontrolltiere gingen — abgesehen von Tierverlusten infolge von Sepsis — prompt an allgemeiner Tuberkulose teils spontan nach 3 bis 4 Wochen zugrunde, teils fanden sich bei der Sektion hochgradige allgemeine tuberkulöse Veränderungen. Für die hohe Infektionskraft des verwendeten Materials spricht ferner, daß die Sputa von Patienten stammten, die an hochgradiger Lungentuberkulose litten — ein Patient ist inzwischen daran verstorben. Das Tier, dessen Lungenauswürfe verwendet wurden, litt an hochgradiger Tuberkulose der Lungen, Leber, Nieren, Milz, des Darmkanals und mehrerer Fleischlymphdrüsen. Das Tier, dessen Gebärmutterausflüsse zur Untersuchung kamen, war an mittelhochgradiger Tuberkulose der Lungen, Leber (nur die Portallymphdrüsen), Milz (nur Milzkapsel, ohne auffallende Herde im Pulpagewebe), Nieren, sowie mittelhochgradiger Tuberkulose der serösen Häute und der Gebärmutter mit den Adnexen erkrankt. Nach der Definition der Virulenz des Infektionsmaterials = die Kraft im Körper Schaden zu stiften, war nach den vorgefundenen krankhaften Veränderungen das vom zweiten Tier verwendete Infektionsmaterial weniger virulent wie das des ersten Tieres.

Zu den Versuchen wurde das Antiformin für pharmazeutische und therapeutische Zwecke (Oskar Kühn-Berlin) genommen; die Lösungen wurden mit Aqua destillata hergestellt und in dunklen Flaschen, gut verschlossen unter Lichtabschluß aufgestellt.

Die quantitative Analyse des Antiformins ergab:

zu Beginn der Versuche . . . . . . 7·015 NaOH und 5·125 Cl.
nach Beendigung der Versuche . . . . 6·843 NaOH und 4·714 Cl.[1]

Die Sputa u. a. wurden in Erlenmeyerkölbchen der Einwirkung der A. L. unter Lichtabschluß ausgesetzt; es wurde öfters umgeschüttelt. Zu einer

[1] Diese Analysenwerte für Chlor geben die Gesamtmenge des mittels Jodkalium und $^1/_{10}$ N Natriumthiosulfatlösung nach dem Ansäuern mit Salzsäure bestimmten Chlors an.



möglichst schnellen Homogenisierung und Auflösung des Schleimes, der Epithelien u. a. und damit zur Erzielung einer möglichst intensiven Einwirkung der A. L. nahm ich jedesmal die mehrfache Menge der A. L., bei niedrig prozentigen Lösungen die 6- bis 10 fache Menge, bei den höher prozentigen die 2- bis 4 fache, bei der 100 prozentigen genügte die gleiche Menge Material und A. L.; auf diese Weise war meist schon nach einigen Minuten, spätestens nach $^1/_2$ bis 1 Stunde je nach der Konzentration der A. L. eine vollkommen dünnflüssige Homogenität eingetreten; bei den hochprozentigen A. L. trat starke Schaumbildung auf.

Zentrifugiert wurde jedesmal 15 Minuten, ausgewaschen wurden die Bodensätze zweimal, zum Auswaschen wurde Aqua destillata benutzt. Um einwandfreie Mengen zu verwenden, habe ich alles Material in der Menge von mindestens je 5 ^{ccm} genommen und jeden Versuch frisch angesetzt. Durch die Behandlung mit Antiformin wurden schon durch die $2^1/_2$ prozentige Lösung die Begleitbakterien derart beeinflußt, daß sie zur Erzeugung einer Sepsis nicht mehr imstande waren; kein einziges der Versuchstiere, die mit A. L. behandeltes Material bekommen hatten, ging an Sepsis zugrunde. Die Begleitbakterien, Epithelien und sonstigen Zellkörper wurden je nach der Konzentrationshöhe der A. L. langsamer oder schneller beeinflußt, aufgelöst und zerstört.

Die Versuchstiere — Meerschweinchen — bekamen je 2 ^{ccm} Material (auf 2 ^{ccm} aufgefüllte vollkommen dünnflüssig homogene Bodensätze ohne jede gröbere Beimengung) in die rechte Leistenbeuge subkutan injiziert; der Gehalt des Materials an Tbc. und das Fehlen nicht aufgelöster „Linsen" wurde jedesmal vor der Injektion geprüft und sichergestellt. Eine Schwierigkeit liegt darin, daß man möglichst gleich große Mengen von Tbc. zur Injektion bekommt. Abgesehen davon, daß es falsch wäre, aus gleichen Mengen Infektionsmaterial auf gleiche Mengen Tbc. zu schließen, wird auch durch mehrfaches mikroskopisches Zählen der Tbc. in verschiedenen Gesichtsfeldern immer nur eine relativ zunehmende Zahl ermittelt werden können, die beim kleinsten Fehler das Resultat um das Vielfache ändert. Bei meinen Versuchen habe ich die Anzahl der in verschiedenen Gesichtsfeldern vorhandenen Tbc. aus später zu erörternden Gründen weniger genau berücksichtigt; es wurde nur das Vorhandensein von zahlreichen Tbc. in den zur Injektion kommenden aufgeschwemmten Bodensätzen festgestellt.

Die Färbung der Tbc. schien erst bei mehrstündiger Einwirkung von 100 prozent. A. L. mangelhaft zu werden; viele Exemplare waren dann wie Korallenketten. Die Versuchstiere wurden, soweit sie nicht spontan vorher eingingen, nach 6 Wochen getötet.

Die Versuchsanordnung bestand darin, daß ich zwei sich vollkommen parallel laufende Versuchsreihen aufstellte. Ich variierte die Konzentrationen der A. L. und die Zeit der Einwirkung der verschiedenen Konzentrationen.

An Konzentrationen wählte ich die

$2^1/_2$, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 prozentige,

an Einwirkungszeiten:

1, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48 Stunden.

Die Verteilung der Stundenzahl der verschiedenen Einwirkungszeiten der einzelnen Antiforminkonzentrationen auf das tuberkulöse Material geht aus den folgenden Tabellen hervor, in denen ich der besseren Übersicht wegen die Resultate meiner Versuche zusammengestellt habe.

Es bedeuten:

+++ = hochgradige allgemeine Tuberkulose der regionären Lymphdrüsen (Abszeßbildung), zahlreiche Knoten in den Lungen und in den Bauchorganen;
++ = allgemeine Tuberkulose der Drüsen, mäßig zahlreiche miliare Tuberkel in Brust- und Bauchorganen;
+ = Tuberkulose der Drüsen (keine Abszeßbildung), keine Organtuberkulose;
0 = keinerlei tuberkulöse Veränderungen.

Tabelle I.
Tbc. vom Typus humanus in Phthisikersputis.

	$2^1/_2$ proz.	5 proz.	10 proz.	15 proz.	20 proz.	25 proz.	50 proz.	100 proz.
1 Stunde	+++	—	—	—	—	—	—	+++
2 Stunden	—	—	—	+++	—	—	—	—
4 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
6 „	—	—	—	—	—	—	—	+++
8 „	—	—	—	+++	—	—	—	—
12 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
18 „	—	—	—	—	—	—	—	+
24 „	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
48 „	—	—	—	—	—	—	—	0

Da die 15 prozentige A. L. von Uhlenhuth für die „Anreicherung“ empfohlen wird, habe ich für diese Konzentration mehrere zeitlich verschiedene Versuche angestellt.



Tabelle II.

Tbc. von Typus bovinus in Lungenauswürfen eines Rindes.

	2½ proz.	5 proz.	10 proz.	15 proz.	20 proz.	25 proz.	50 proz.	100 proz.
1 Stunde	+++	—	—	—	—	—	—	+++
2 Stunden	—	—	—	+++	—	—	—	—
4 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
6 "	—	—	—	—	—	—	—	+++
8 "	—	—	—	+++	—	—	—	—
12 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
18 "	—	—	—	—	—	—	—	+
24 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0
48 "	—	—	—	—	—	—	—	0

Tabelle III.

Tbc. vom Typus bovinus in Gebärmutterausflüssen eines Rindes.

(Aus Mangel an ausreichendem Material sind nicht alle Versuche wie in Tabelle I und II angesetzt.)

	2½ proz.	5 proz.	10 proz.	15 proz.	20 proz.	25 proz.	50 proz.	100 proz.
1 Stunde	—	—	—	—	—	—	—	0
2 Stunden	—	—	—	—	—	—	—	—
4 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	—
6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
12 "	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
18 "	—	—	—	—	—	—	—	—
24 "	—	—	—	—	++	0	0	0
48 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle I und II zeigen keine Unterschiede in der Abnahme der Ausbreitung der tuberkulösen Erkrankung der Tiere bei gleich hoher Konzentration der A. L.; in Tabelle III beginnt die Verringerung der tuberkulösen Veränderungen bereits bei einer wesentlich niedrigeren Konzentration der A. L.

Nach diesen Untersuchungsresultaten liegt offenbar eine Beeinflussung der Vitalität der zur Infektion verwendeten Tbc. durch das Antiformin und zwar durch die Höhe der Konzentration vor.

Diese Beeinflussung kann sich erstrecken:

I. auf die Zahl der Tbc.;
II. auf die Virulenz derselben;
III. auf die Vermehrungsfähigkeit derselben.

Sicherlich wird eine große Menge der Tbc. durch das Antiformin lebens- und infektionsunfähig, ein anderer Teil wird durch die natürlichen

Abwehrkräfte des Tierkörpers unschädlich gemacht. Wieviel Exemplare der Tbc. noch am Leben und zur Infektion tüchtig bleiben, das läßt sich nicht feststellen. Man könnte unter der allerdings wahrscheinlichen Voraussetzung, daß bei höherer Konzentration der A.L. eine größere Anzahl weniger resistenter Exemplare der Tbc. abgetötet werden, annehmen, daß die Menge der infektionstüchtigen Tbc. mit steigender Konzentration des A. L. abnimmt, und daß dann nur noch die hochresistenten Tbc. übrig bleiben. Wieviel das sind, das entzieht sich den Untersuchungsmöglichkeiten.

C. Fränkel und E. Baumann kommen nach ihren Untersuchungen zu der Vermutung, daß bei manchen Tbc.-Kulturen schon die Verpflanzung eines einzigen Keimes genügt, um eine Ansteckung mit allen ihren weiteren Folgen zustande kommen zu lassen.

Nach den Untersuchungen von Joest spielt die Menge der die Lymphdrüsen infizierenden Tbc. in bezug auf das Verhalten des Lymphdrüsengewebes keine Rolle; nach dessen Untersuchungen erzeugten wenige Tbc., die nur akzidentell zugeführt waren, ebenso schnell spezifische Veränderungen im Lymphdrüsengewebe der Umgebung der Infektionsstelle (Lgld. subiliacae) wie in den massig infizierten Lymphdrüsen der gewählten Infektionsstelle (Inguinaldrüsen).

Die genaue Menge der injizierten Tbc. kann demnach nicht als allein ausschlaggebender Faktor bei dem Zustandekommen und für den verschieden starken Erfolg der Infektion angesehen werden.

Die Einwirkung kann sich auf die Virulenz erstrecken.

Es können die verschiedenen Ausdehnungen der tuberkulösen Erkrankung in der verschieden hohen Infektionskraft der Tbc. begründet sein oder in der verschieden individuellen Widerstandsfähigkeit (Disposition) der einzelnen Tiere. Nur unter der Annahme, daß alle Tiere von gleichem Gewicht und gleicher Größe ungefähr gleich disponiert sind bzw. gleich widerstandsfähig gegen infektiöse Einwirkungen, und man mit Virulenz des Infektionsmaterials den Grad der Infektionskraft für eine bestimmte Tierart definiert, kann man aus der verschieden abnehmenden Ausbreitung der Erkankung einen Schluß ziehen auf die Abschwächung der Virulenz der einzelnen infizierenden Tbc. durch die A. L.

Die verschiedene individuelle Disposition der Tiere spielt jedoch hierbei eine große Rolle. Die verschiedene Stärke der Abwehrkräfte des Tierorganismus und das Verhalten derselben der massenhaften Einführung von Tbc. gegenüber können einen bedeutenden Ausschlag geben. Wenn der Organismus auch gegen einzelne eindringende selbst hochvirulente Tbc. genügend resistent sein kann, so kann derselbe vielleicht bei massenhafter Überschwemmung von minder virulenten Tbc. versagen. Das Tier

kann alsdann infolge von raschem Verbrauch seiner Abwehrmittel durch weniger virulente Tbc. ebenso schnell und stark erkranken wie durch vollvirulente.

Ferner könnte die Vermehrungsfähigkeit der injizierten Tbc. durch die Antiforminbehandlung beeinflußt sein. Man kann auch hier nur mit einiger Wahrscheinlichkeit — wie bei der Verringerung der Zahl der weniger resistenten Exemplare durch die Antiformineinwirkung — annehmen, daß die Vermehrungsmöglichkeit numerisch durch die Abtötung vieler Tbc. bedeutend verringert ist, und daß bei hochprozentigen A. L. wie überhaupt die Vitalität so auch speziell die Vermehrungsfähigkeit notleidet.

Auf welcher speziellen schädigenden Wirkung des Antiformins das nachherige Verhalten der Tbc. im Versuchstierkörper beruht, und welche der Vitalitätseigenschaften oder ob alle beeinflußt werden, dafür ist ohne weitgehende theoretische Überlegungen und umfangreiche Versuche unter besonderen Kautelen ein genauer Beweis nicht zu erbringen.

Zusammenfassung.

1. Es gibt Tbc.-Stämme — sowohl beim Typus humanus in Sputis, wie beim Typus bovinus in Lungenauswürfen und Gebärmutterausflüssen von Rindern — die sehr resistent gegen Antiformineinwirkung sind und erst bei längerer Einwirkung (12 bis 24 Stunden) von konzentriertem Antiformin ihre Infektionskraft beim Tierversuch (Meerschweinchen) verlieren.

2. Solche Tbc.-Stämme des Typus humanus und des Typus bovinus können sich in ihrer Resistenz gegen Antiformin vollkommen gleich verhalten und keine Unterschiede zeigen.

Literatur.

1. Uhlenhuth u. Xylander, Untersuchungen über Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1909. Bd. XXXII.

2. C. Fraenkel u. E. Baumann, Untersuchungen über die Infektiosität verschiedener Kulturen des Tuberkelbacillus. *Diese Zeitschrift.* 1906. Bd. LIV.

3. F. M. Schmitt, Untersuchungen über die Desinfektionskraft des Antiformins. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere.* 1907. Bd. II.

4. Schmitt u. Pröscholdt, Über die Verwendbarkeit des Antiformins zum Nachweis der offenen Formen der Rindertuberkulose. *Ebenda.* 1912. Bd. XI.

5. Joest, Emshoff u. Semmler, Experimentelle Untersuchungen zur Frage des Vorkommens latenter Tuberkelbazillen in Lymphdrüsen. *Ebenda.* 1912. Bd. XII.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Laboratorium: Prof. Dr. Jos. Koch.)

Zum Mechanismus der Resorption experimentell in die Pleurahöhle eingeführter Formelemente und Bakterien.

Von

Dr. **T. Aoyama,**
früherem Assistenzarzt der chirurg. Universitätsklinik zu Tokio.

(Hierzu Taf. II.)

Während das Verhalten und die Resorption von korpuskulären Elementen und Bakterien in der Peritonealhöhle von Versuchstieren schon oft Gegenstand der Untersuchung gewesen ist, ist die Resorption pathogener Mikroorganismen in der Pleurahöhle merkwürdigerweise noch nicht genauer untersucht, so daß bis jetzt, soweit unsere Kenntnisse der Literatur reichen, kaum etwas darüber bekannt ist. Daß wir über den Ablauf der intrapleuralen Infektion so mangelhaft unterrichtet sind, mag zum Teil daran liegen, daß dieser Infektionsmodus wegen der technischen Schwierigkeiten ungleich seltener ausgeführt wird als die intraperitoneale Infektion, von der bekanntlich in der experimentellen Bakteriologie der weitgehendste Gebrauch gemacht wird.

Grundlegende Resultate experimenteller Untersuchungen über die Resorption von Flüssigkeiten und korpuskulären Elementen in der Brusthöhle haben in der neuesten Zeit Jos. Koch und G. Bucky[1] veröffentlicht.

[1] Jos. Koch und G. Bucky, Über die Resorption der serösen Höhlen, insbesondere der Pleurahöhle, mittels Röntgenstrahlen. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen.* Bd. XIX.



Nachdem Jos. Koch[1] schon für die Bauchhöhle festgestellt hatte, daß bei der intraperitonealen Resorption keineswegs die ganze Bauchhöhle, wie man bis dahin allgemein angenommen hatte, sondern fast ausschließlich das große Netz und in zweiter Linie das Centrum tendineum (von Recklinghausen) des Zwerchfelles als resorbierende Organe in Frage kommen, konnte auch für die Pleurahöhle durch die experimentellen Versuche Jos. Kochs und Buckys bewiesen werden, daß an der Resorption nicht die gesamte Pleurahöhle, sondern nur bestimmte Partien der Thoraxhöhle teilnehmen.

Nach den Untersuchungen der eben genannten Autoren ist es vor allem das lockere Bindegewebe des Mediastinums mit seinen Lymphspalten und Lymphgefäßen, das fast ausschließlich die Aufsaugung von Flüssigkeiten und körperlichen Bestandteilen innerhalb der Brusthöhle bewirkt, während die übrige Pleurahöhle bis auf die Lymphgefäße, welche die Rippengefäße begleiten, an der Resorption so gut wie gar nicht beteiligt ist. Die Versuche, die Jos. Koch dann weiter mit verschiedenen Bakterien anstellte, die er in die Pleurahöhle einspritzte, ergaben, daß auch diese belebten Elemente in derselben Weise wie die unbelebten feinsten Farbstoffpartikelchen durch die zahllosen Lymphspalten des mediastinalen Bindegewebes resorbiert wurden. Da es von hohem Interesse war, die feineren Vorgänge, die bei diesen Versuchen in Frage kamen, noch genauer aufzuklären, habe ich auf Anregung und unter steter Leitung von Prof. Jos. Koch die Verhältnisse der pleuralen Resorption und Infektion an verschiedenen Versuchstieren weiter verfolgt.

Technik.

Die kunstgerechte intrapleurale Injektion macht keine Schwierigkeiten, vorausgesetzt, daß man dabei einige Vorsichtsmaßregeln beobachtet. Am besten bedient man sich zur Injektion feiner Nadeln mit abgestumpfter Spitze, da man mit diesen noch am ehesten eine Verletzung des Lungengewebes vermeidet. Weiter empfiehlt es sich, an der Stelle des Einstiches mit der Schere einen kleinen Hautdefekt zu machen. Den Moment, wo die Nadel die Thoraxwandung durchbohrt hat und in die Pleurahöhle eingedrungen ist, fühlt die Hand an dem plötzlichen Aufhören des Widerstandes.

Als Injektionsstelle bevorzuge ich die vordere Axillarlinie des dritten oder vierten Interkostalraumes. Von dieser Stelle aus gelangt die Spitze

[1] Jos. Koch, Über die Bedeutung und Tätigkeit des großen Netzes bei der peritonealen Infektion. *Diese Zeitschrift.* 1911. Bd. LXIX. — *Med. Klinik.* 1911.



der Nadel am sichersten in die Pleurahöhle. Wählt man die Stelle zu weit hinten, etwa neben der Wirbelsäule, so kann die Nadel in das hintere Mediastinalgewebe geraten. Injiziert man zu weit unten, so gelangt die einzuspritzende Flüssigkeit leicht in die Bauchhöhle, wodurch natürlich der Zweck des Versuches vereitelt wird.

Die Versuche wurden an Hunden, Kaninchen, Ratten, der Bequemlichkeit wegen zum weitaus größten Teil an Meerschweinchen vorgenommen. Die nachfolgende Schilderung bezieht sich hauptsächlich auf das letztere Versuchstier; doch möchte ich hier ausdrücklich hervorheben, daß die bei dieser Tierart erhaltenen Befunde mit denen der übrigen genannten Versuchstiere fast vollständig übereinstimmen. Wo dies nicht der Fall ist, werde ich es besonders hervorheben.

I. Versuche mit Farbstoffemulsionen.

Spritzt man einem Versuchstiere, z. B. einem Meerschweinchen, etwa 1^{ccm} einer fein verriebenen Tuscheemulsion in die Pleurahöhle und tötet das Tier nach etwa 24 Stunden, so kann man konstatieren, daß die eingespritzte Flüssigkeit aus der freien Pleurahöhle fast ganz verschwunden ist. Nur eine minimale Menge schwärzlichen Exsudates ist in dem Brustraum der injizierten Seite zurückgeblieben. Doch befinden sich beim Meerschweinchen und der Ratte auch in der anderen Pleurahöhle Spuren der schwärzlichen Flüssigkeit. Bei den größeren Tieren, Kaninchen und Hunden, bei denen man die Dosis der Tuscheemulsion natürlich höher wählt (bei Kaninchen 4 bis 5^{ccm}, bei Hunden 15^{ccm}), findet sich nach 24 Stunden dieser Rest jedoch nur in der injizierten Pleurahälfte. Auf der Oberfläche der Pleura sieht man ferner hin und wieder schwärzlich verfärbte Fibrinbeläge.

Untersucht man nun diese in der Pleurahöhle zurückgebliebene Flüssigkeit auf Formbestandteile, so läßt sich folgendes feststellen:

Unter den zelligen Elementen steht die polynukleäre Zellart der Leukozyten an Zahl obenan. Ihr Zellleib ist durchweg mit feinen Tuschekörnchen beladen, und nur ausnahmsweise findet man tuschefreie Zellen dieser Art. Die Tuschepartikelchen sind in den verschiedenen Zellen nicht von gleicher Größe; in der einen Zelle befinden sich z. B. ziemlich grobe, in der anderen Zelle oft ganz feine Tuschepartikel. Sie haben jedoch in ein und derselben Zelle im allgemeinen die gleiche Größe.

Was die Lagerung der Farbstoffteilchen in Form von kleinen runden, schwarzen Granula angeht, so kommt sie, wie bereits Jos. Koch in seiner Arbeit „Über den Mechanismus der Phagozytose“[1] angegeben hat, so zu-

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. LXIX.

stande, daß die normalen Granula des Leukozytenprotoplasmas die feinen Tuscheteilchen adsorbieren, so daß sie nunmehr in Form von kleinen, runden, der Größe der Granula entsprechenden Körpern im Innern der Leukozyten liegen. Wo die Granula der Phagozyten eine besondere Größe haben, wie das bei den Makrophagen des Pleuraexsudates der Fall ist, da findet sich der Farbstoff auch in Form größerer Gebilde auf den Granulis fixiert. Der Unterschied der Größe der Granula der polynukleären Leukozyten und der Makrophagen ist auffallend. Die Makrophagen sind ebenfalls im Pleuraexsudat vorhanden, jedoch ist diese zweite Zellform an Zahl weit geringer im Exsudat vertreten als der polynukleäre Leukozyt. Ihr Zellleib ist im übrigen doppelt oder dreifach so groß wie der des polynukleären Leukozyten. Ihr Kern ist bald oval, bald rundlich geformt und liegt meist exzentrisch im Zellleibe, von den groben Tuschekörnchen sichelförmig umgeben. Die Makrophagen sind sehr selten frei von Tuschekörnchen. Neben diesen beiden Zellarten, die man konstant in dem Flüssigkeitsrest der Pleurahöhle antrifft, befinden sich noch spärliche Lymphozyten im Exsudat, die stets frei sind, sich also an der Phagozytose fremder Elemente nicht beteiligen. Mononukleäre eosinophile Zellen habe ich nur selten und dann gewöhnlich nur in spärlicher Zahl gefunden.

Auffällig ist, daß man bei den kleinen Versuchstieren, dem Meerschweinchen und der Ratte, das farbstoffhaltige Exsudat nach 24 Stunden in beiden Pleurahöhlen findet, gleichgültig, in welche Thoraxhälfte man die Farbstoffemulsion eingespritzt hat. Man könnte glauben, daß die Verletzung des sehr dünnen, leicht zerreißlichen Mediastinums, das beide Pleurahöhlen voneinander scheidet, durch die Injektionsnadel oder infolge des gewaltsamen Todes des Tieres die Ursache dieser Erscheinung ist.

Diese Annahme trifft jedoch nicht zu; denn ich habe fast alle Tiere sehr vorsichtig behandelt und ohne Gewaltanwendung durch Chloroform getötet, so daß diese Fehlerquellen nicht in Betracht kommen. Man muß demnach annehmen, daß bei den kleinen Versuchstieren beide Pleurahöhlen durch Lymphbahnen miteinander in direkter Verbindung stehen.

Nachdem wir konstatiert haben, daß die Farbstoffemulsion nach 24 Stunden bis auf sehr geringe Reste aus der freien Pleurahöhle verschwunden ist, fragt es sich, wo die Hauptmenge derselben geblieben ist, und welche Teile der Pleurahöhle sie aufgenommen haben.

Schon bei der Besichtigung fällt die ungleichmäßige Verfärbung der Pleurahöhle auf; so ist z. B., was ich besonders hervorheben möchte, die Lungenoberfläche ganz und gar frei von Farbstoffkörnchen. Man kann diese Tatsache so deuten, daß die Pleura pulmonalis unfähig ist, korpuskuläre Elemente aufzunehmen. Sie scheidet also als resorbierendes Organ der Pleurahöhle vollkommen aus.



Was die Pleura costalis anbelangt, so ist die streifenförmige Verfärbung entsprechend dem Verlauf der Interkostalgefäße auffallend und namentlich in der oberen Hälfte der Thoraxwandung deutlich. Diese Verfärbung kommt durch Aufnahme des schwarzen Farbstoffes durch die die Interkostalgefäße begleitenden Lymphbahnen zustande. Im übrigen ist diese Verfärbung jedoch ziemlich unbedeutend und beschränkt sich nur auf einzelne Streifen.

Die bei weitem größte Menge des Farbstoffes befindet sich in dem Mediastinalgewebe.

Bevor ich die Verteilung des Farbstoffes im Gewebe des Mediastinums der Thoraxhöhle genauer schildere, möchte ich eine kurze anatomische Beschreibung des Mediastinums der Thoraxhöhle des Meerschweinchens vorausschicken und weiter kurz auf die Verhältnisse der übrigen Versuchstiere eingehen.

Die Partie des Mediastinalgewebes, welche den Hilus der Lunge und der großen Gefäßstämme umgibt, macht einen verhältnismäßigen kleinen Teil des ganzen Mediastinalgewebes aus. Die größte Partie der Scheidewand der beiden Thoraxhöhlen ist durchsichtig dünn und stellt eine sehr feine, leicht verletzliche Membran dar (s. Taf. II, Fig. 1). Diese dünne durchsichtige Partie kann man nun in drei Abschnitte zerlegen, je nach der Lage zum Herzen und den Gefäßstämmen. Der vordere Abschnitt oder das Mediastinum anterius spannt sich zwischen der Rückseite des Brustbeines einerseits, dem Herzen und den großen Gefäßen andererseits aus. Zwischen der Wirbelsäule, dem Herzen mit den Gefäßstämmen scheidet das Mediastinum posterius die linke von der rechten Pleurahöhle. Das vordere Mediastinalblatt spaltet sich nun in der Höhe der unteren Grenze des Herzens weiter in zwei Blätter. Das linke Blatt stellt sich als die Fortsetzung des Hauptblattes dar und geht allmählich in das hintere Mediastinum über. Das rechte Blatt setzt hinten an der Vena cava inferior an. Beide Blätter finden, indem sie divergieren, ihre Befestigung am Zwerchfell. Es wird so zwischen diesen beiden Blättern und dem Zwerchfell ein Raum gebildet, der einen Rezessus in der großen rechten Pleurahöhle bildet. Ich bezeichne diesen Raum als Mediastinum inferius.

Beim Kaninchen ist das vordere Mediastinalgewebe sehr breit entwickelt, d. h. zwischen Herz und der hinteren Sternalfläche spannt es sich nicht in Form einer Membran wie beim Meerschweinchen aus, sondern liegt als lockeres Gewebe des vorderen Mediastinums dem Herzen und der hinteren Brustbeinfläche dicht an.

Beim Hunde liegen die Verhältnisse ebenso, auch bei der Ratte.

So viel über die Anatomie des Mediastinalgewebes.



Aus der schwarzen Verfärbung des Mediastinums läßt sich schon bei der makroskopischen Betrachtung ohne weiteres schließen, daß hier die Hauptmenge des Farbstoffes abgelagert ist. Die intensive Verfärbung dieser Gewebspartien hebt sich scharf ab gegen die sehr geringe streifenförmige Verfärbung der Pleura costalis. Sehr charakteristisch ist nun ferner die Lagerung des Farbstoffes in den verschiedenen Partien des Mediastinalgewebes (s. Taf. II, Fig. 1).

Im Mediastinum anterius sieht das Auge zunächst eine schwarze baumförmig verzweigte Figur. Ein wenige Millimeter dicker Stamm verläuft fast in der Mitte des Mediastinums parallel der Hinterfläche des Brustbeins. Er ist im Niveau etwas erhaben, aber scharf begrenzt. Sein proximales Ende ist abgerundet, das kaudale jedoch löst sich in zahlreiche Äste auf. Die Dicke dieses Stammes ist in seinem ganzen Verlauf keine gleichmäßige; unregelmäßige Verdickungen wechseln ab mit schmalen Partien. Von diesem Hauptstamm gehen zahlreiche Zweige ab. Die Zweige verästeln sich weiter, um nach und nach in ganz dünne Ausläufer überzugehen. Die Äste verlaufen jedoch nicht nach Art von Baumzweigen, sondern gehen untereinander mannigfaltige Anastomosen ein. Auch bei den feinsten Zweigen ist die Unregelmäßigkeit des Durchmessers während ihres Verlaufes sehr auffallend. Ein ähnliches baumförmiges Gebilde findet sich in den beiden divergierenden Blättern des Mediastinums inferius. Doch liegt dieses Gebilde in sagittaler Richtung, sendet aber ebenfalls zahlreiche Zweige aus, die untereinander wieder zahlreiche Anastomosen bilden. Der unregelmäßige Dickendurchmesser des Hauptstammes dieser baumförmigen Figur tritt im Mediastinum inferius noch viel deutlicher hervor.

Ich habe diese Verhältnisse der Farbstoffverteilung deshalb eingehender geschildert, weil die späteren Versuche der pleuralen Infektion mit verschiedenen Bakterienarten vollkommen analoge Verhältnisse zeigen. Für den Mechanismus der bakteriellen Infektion geben die Farbstoffversuche daher wertvolle Fingerzeige ab.

Die Anordnung des Farbstoffes in Form von baumförmigen Strängen und Verästelungen läßt gewisse Schlüsse auf die Art des Zustandekommens dieser Figuren ziehen.

Ohne weiteres von der Hand zu weisen ist die Annahme, daß der Farbstoff dem Mediastinalgewebe nur oberflächlich aufgelagert ist. Der Farbstoff liegt vielmehr im Gewebe selbst und zwar in einem präformierten Kanalsystem, das in mannigfaltigster Weise untereinander kommuniziert. Ob es sich um Blut- oder Lymphgefäße handelt, kann mit Sicherheit nur durch die mikroskopische Untersuchung festgestellt werden, doch spricht schon die makroskopische Beschaffenheit dafür,

daß es sich hier um Lymphgefäße des Mediastinalgewebes und der Pleurahöhle im allgemeinen handelt.

An dieser Stelle sei noch hervorgehoben, daß neben und in der Mitte des Brustbeins, der Hinterfläche der vorderen Thoraxwandung angelagert, sich jederseits gewöhnlich je ein hanfkorn- bis linsengroßes schwärzlich gefärbtes Knötchen befindet; je ein etwas größeres, ebenfalls schwarz gefärbtes Knötchen befindet sich an den beiden Rändern des proximalen Endes des Manubrium sterni. Eine makroskopische Verbindung dieser Knötchen, die offenbar kleine Lymphdrüsen, die Farbstoff aufgenommen haben, darstellen, mit den baumförmig verzweigten Figuren, scheint jedoch nicht zu bestehen.

Zum genaueren Studium dieser eben geschilderten Verhältnisse empfiehlt es sich, den Brustkorb mit seinen inneren Organen als Ganzes in einer Fixierungsflüssigkeit (Kaiserlingsche Flüssigkeit) zu härten. Von verschiedenen Stellen des Mediastinalgewebes werden alsdann Stücke zum Zwecke der Herstellung von mikroskopischen Präparaten herausgeschnitten. Beim Meerschweinchen ist der größte Teil des Mediastinalgewebes so außerordentlich zart, dünn und durchsichtig, daß man eine beliebige Stelle nur herauszuschneiden und zu färben braucht, um ein geeignetes mikroskopisches Präparat zu gewinnen. Das herauspräparierte Stück wird dann wie ein Zelloidinschnitt behandelt; selbstverständlich muß das Manipulieren mit diesen zarten Gewebsteilen während des Färbungsverfahrens in vorsichtiger Weise geschehen. Als Färbung empfehle ich die Eosin-Methylenblaumethode in der Modifikation, wie sie Lentz angegeben hat; sie eignet sich für diese Zwecke recht gut. Das mikroskopische Bild eines derartig hergestellten Präparates vom Mediastinum eines Meerschweinchens, in dessen Pleurahöhle etwa 2 ccm Farbstoffemulsion eingespritzt waren, und das nach 24 Stunden getötet wurde, ist etwa folgendes:

Bei schwacher Vergrößerung sieht man im Gewebe zahlreiche schwarze Stränge von verschiedener Dicke. Dadurch, daß der Dickendurchmesser im Verlauf starke Schwankungen aufweist, daß ihr Verlauf nicht gerade, sondern gewunden ist, erhalten sie ihr besonderes Gepräge. Die dicken Stränge bilden gewissermaßen ein Bündel und umspinnen förmlich die Blutgefäße. Diese zusammengesetzten Stränge anastomosieren auch mannigfaltig untereinander mit kurzen Verbindungsbrücken, und auf diese Weise kommt ein die Blutgefäße umspannendes Netzwerk zustande. Indem zahlreiche, verschieden dicke Zweige von den dickeren Strängen sich abzweigen und diese wieder untereinander in Verbindung treten, entstehen an manchen Stellen förmliche Netzgeflechte. Die Maschenräume des Netzwerkes sind verschieden groß; ihre Größe schwankt in erheblichem Grade.



Wie bereits hervorgehoben, ist der wechselnde Dickendurchmesser der Stränge sehr charakteristisch. Von weiteren Eigentümlichkeiten wäre zu erwähnen, daß sie vielfach direkte Ausstülpungen und Ausbuchtungen oder seitliche rundliche Anschwellungen bilden, daß sich der Durchmesser an einzelnen Stellen plötzlich verjüngt, und manchmal nur ganz feinste Verbindungsbrücken zu sehen sind. Der Übergang von Strängen mit dicken zu solchen von dünnem und dünnstem Durchmesser ist zuweilen außerordentlich schroff.

Aus dieser Beschreibung wird man bereits den Eindruck gewonnen haben, daß diese Stränge nichts anderes als mit Farbstoffpartikelchen vollgestopfte Lymphgefäße darstellen. Der gewundene Verlauf, die wechselnde Weite des Lumens, die seitlichen, rundlichen Ausbuchtungen sprechen ohne weiteres dafür. Auch die Beschaffenheit der Wandungen zeigt den charakteristischen Bau der Lymphgefäße. Die Gefäßwand ist sehr dünn, an manchen Stellen, wo das Lumen mit Farbstoff dicht gefüllt ist, als solche kaum zu erkennen.

Die einfache Endothelschicht ist aber doch deutlich da zu unterscheiden, wo nur geringe Mengen des Farbstoffes im Lumen liegen. Die Endothelzellen haben häufig Farbstoffkörnchen aufgenommen. Dieser Umstand erschwert dann noch besonders die Erkennung der Endothelschicht der mit Farbstoff erfüllten Lymphgefäße.

Auf Grund dieser Befunde kann ich mit Sicherheit behaupten, daß fast die ganze Menge einer Farbstoffemulsion, die in die Pleurahöhle eines Versuchstieres eingespritzt ist, von dem stark entwickelten Lymphgefäßsystem des Mediastinalgewebes aufgenommen wird. Die Resorption von korpuskulären Elementen in der Pleurahöhle geschieht also nicht durch das Blut, sondern durch das Lymphgefäßsystem, geht also in derselben Weise wie in der Bauchhöhle vor sich; denn wie die Versuche von Jos. Koch ergeben haben, erfolgt auch in der Bauchhöhle die Resorption von Flüssigkeiten und korpuskulären Elementen, besonders auch von Bakterien durch die Lymphgefäße des großen Netzes.

Das wichtige Problem der Resorption innerhalb der Pleurahöhle ist damit in der Hauptsache geklärt. Um aber über die genaueren Verhältnisse des Mechanismus der Aufsaugung innerhalb der Brusthöhle ins klare zu kommen, muß man das Verhalten des Farbstoffes innerhalb des Lymphkanalsystems des mediastinalen Bindegewebes weiter verfolgen. Die Stellen, wo der Farbstoff das Lumen einer Lymphkapillare vollständig ausgefüllt hat, eignen sich nicht zum Studium der feineren Vorgänge. Es empfiehlt sich vielmehr eine relativ wenig mit Farbstoff beladene Partie zu untersuchen. Hier läßt sich ohne weiteres feststellen, daß ein Teil des Farbstoffes voll-

kommen frei im Gefäßlumen liegt, während der andere Teil sich innerhalb von Leukozyten befindet.

Jos. Koch hat in seiner bereits erwähnten Arbeit über „Die Bedeutung und Tätigkeit des großen Netzes bei der peritonealen Infektion" festgestellt, daß die Resorption in der Bauchhöhle auf zweierlei Weise vor sich geht: „Einmal können die Lymphgefäße des Netzes," sagt er, „diese Elemente direkt ohne Vermittlung der Phagozytose aufsaugen — ich nenne diese Art der Resorption die direkte — bei der zweiten Art sind die aus dem Netz ausgewanderten phagozytären Elemente, vor allen Dingen die Makrophagen in hervorragender Weise beteiligt, indem diese Leukozyten, Bakterien und Elemente aufnehmen und dann in die einzelnen Teile des Netzes zurückwandern. Diese Art der Resorption ist also die indirekte". Er hat demnach bei der Resorption, die durch das große Netz in der Peritonealhöhle vermittelt wird, zwei wichtige Vorgänge unterschieden: erstens die direkte und zweitens die indirekte Resorption.

Auch aus meinen Versuchen geht ohne weiteres hervor, daß die direkte Resorption innerhalb der Brusthöhle eine große Rolle spielt, ja ich möchte hier hervorheben, daß dieser Art der Resorption bei der Entfernung der in die Pleurahöhle eingespritzten korpuskulären Elemente die Hauptrolle zufällt; denn quantitativ übertrifft die freie Farbstoffmasse in den Lymphgefäßen die phagozytierte bei weitem, wohlgemerkt, soweit die erste Resorption in Frage kommt. Die Frage, ob die in den Phagozyten liegenden Farbstoffteilchen innerhalb des Lumens der Lymphgefäße phagozytiert, oder ob der Farbstoff aus der freien Brusthöhle durch die Phagozyten in die Lymphgefäße verschleppt worden ist, bedarf einer genaueren Untersuchung.

Nach der Injektion der Farbstoffemulsion tritt gewöhnlich nach Verlauf einer Stunde eine lebhaftere Leukozytenauswanderung ein. Sobald die Leukozyten in der freien Brusthöhle angelangt sind, beginnt auch das Phänomen der Phagozytose. Welche Zellen sich daran beteiligen, habe ich bereits oben erörtert. Im übrigen herrschen hier dieselben Verhältnisse wie in der Peritonealhöhle. In der ersten Zeit sieht man fast ausschließlich polynukleäre Leukozyten. welche die fremden Partikelchen in sich aufnehmen, nach 2 Stunden ist ihre Zahl schon erheblich gewachsen. Erst später treten die Makrophagen auf und damit eine viel energischere Phagozytose der Farbstoffteilchen. Die zahlreichen, mit fremdem Inhalt beladenen Phagozyten verschwinden allmählich wieder aus der Brusthöhle, bis nach 24 Stunden nur noch verhältnismäßig wenige in dem zurückgebliebenen Flüssigkeitsrest enthalten sind. Das Schicksal dieser ausgewanderten Leukozyten ist verschieden. Teilweise zerfallen sie nach meiner Ansicht im Exsudat — wie groß diese Zahl ist, läßt sich nur

schwer bestimmen —, zum größten Teil wandern sie in die einzelnen Teile des Mediastinalgewebes zurück und zwar auf dem Wege der Lymphbahnen. Auf diese Art und Weise kommt also die von Jos. Koch so bezeichnete indirekte Resorption durch die Vermittlung der Leukozyten zustande.

Auf eine Erscheinung sei hier noch besonders hingewiesen. Im mikroskopischen Präparat sieht man an einzelnen Stellen die Lymphgefäße mit Farbstoffmassen ohne zellige Bestandteile dicht gefüllt, während an anderen eine starke Phagozytose sichtbar ist. Es ist wahrscheinlich, daß es sich im letzteren Falle um eine in den Lymphgefäßen selbst auftretende sekundäre Phagozytose handelt. Auf diese Weise kann der von einem Lymphgefäß direkt resorbierte fremde Inhalt noch sekundär innerhalb des Lumens des Gefäßes phagozytiert werden. Auf welche Weise und woher die Phagozyten in diese mit Farbstoff vollgestopften Lymphgefäße sekundär hineingelangen, ist schwer zu sagen. Ob hier innerhalb der Lymphgefäße eine Vermehrung der Leukozyten stattfindet, oder ob die wahrscheinlich den Blutgefäßen entstammenden Leukozyten sofort wieder von den Lymphgefäßen resorbiert werden und dann nach der Resorption als Phagozyten innerhalb des Lymphgefäßes tätig sind, diese Fragen sind noch zu beantworten.

II. Versuche mit Bakterien.

Zu meinen Versuchen benutzte ich folgende Bakterienarten: Tuberkelbazillen, Staphylococcus pyogenes aureus, Streptococcus longus seu erysipelatos, Bacterium coli und den Milzbrandbacillus.

Über die Versuchsanordnung ist nichts Besonderes zu erwähnen. Die Aufschwemmung der Tuberkelbazillen vom humanen Typus wurde in der bekannten Weise durch Verreibung der Kultur mit Kochsalzlösung im Achatmörser möglichst fein hergestellt. Milzbrand- und Colibazillen, sowie Staphylokokken wurden von einer 24stündigen frischen Agarkultur (eine Öse in 1 ccm Kochsalzlösung) in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Vom Streptococcus longus verwendete ich eine 24stündige Pferdeserumbouillonkultur. Je 1 ccm dieser Emulsionen wurde dann den betreffenden Tieren in die Pleurahöhle eingespritzt. Die Tiere wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion zu Tode chloroformiert. Im allgemeinen sei hier bemerkt, daß die Versuche mit den einzelnen Bakterienarten im großen und ganzen übereinstimmende Resultate ergaben. Bei der Autopsie war gewöhnlich folgender Befund zu konstatieren: Die Pleurahöhle enthält einige Kubikzentimeter mehr oder weniger getrübter Flüssigkeit mit geringer Blutbeimischung. Auch in der anderen Pleura-



hälfte befindet sich beim Meerschweinchen gewöhnlich eine zwar geringere, aber ähnlich beschaffene Flüssigkeitsmenge; in dem Exsudat lassen sich folgende Zellelemente unterscheiden:

Polynukleäre Leukozyten; sie sind am zahlreichsten vertreten und enthalten die betreffenden Bakterien in verschiedener Menge in ihrem Zellleibe. Der Grad der Phagozytose ist jedoch bei den verschiedenen Bakterienarten und je nach der Dauer des Versuches verschieden stark. Am stärksten zeigte sich die Phagozytose bei den Strepto- und Staphylokokken. Dann folgten Coli- und Tuberkelbazillen und zuletzt der Milzbrandbacillus. Die Menge der in der freien Pleurahöhle vorhandenen Bakterien nimmt nach der Injektion sukzessive ab, ein Vorgang, den ich durch Punktion der Pleurahöhle mittels feiner Kapillaren feststellte. Weiter finden sich im Exsudat noch Lymphozyten, die jedoch immer frei von Bakterien sind; außerdem sieht man abgestoßene Endothelzellen und relativ reichlich rote Blutkörperchen.

Macht man sich das Mediastinum der Betrachtung zugänglich, indem man den Brustkorb von der dicken Muskulatur befreit und an den beiden Seiten genügend große Fenster ausschneidet, so bietet sich dem Auge ein eigentümliches Bild, das demjenigen sehr ähnlich ist, das man nach Injektion von Milch in die Pleurahöhle erhält. Wenn man dann das Mediastinum spannt, indem man den Brustkorb in sagittaler Richtung dehnt, und zugleich das Herz nach oben drängt, so lassen sich die Einzelheiten an dem so gespannten Mediastinum in ausgezeichneter Weise verfolgen.

In dem zwar etwas getrübten, aber doch durchscheinenden Mediastinalblatt liegen zahlreiche sich verzweigende, weißlich durchsichtige Figuren eingebettet. Was bei den Tuscheversuchen als ein schwarzes Netzwerk hervortrat, das sieht bei den Bakterienversuchen weißlich verfärbt aus. Zahlreiche verschieden dicke Verästelungen gehen von den relativ dicken, verschieden langen Stämmen ab, sie charakterisieren sich durch ihren gewundenen unregelmäßigen Verlauf und die wechselnde Weite des Durchmessers als Lymphbahnen. Nach der Erhärtung des ganzen Brustkorbes in Kaiserlingscher Flüssigkeit wird zum Zweck der mikroskopischen Untersuchung eine vom Mediastinalgewebe herausgeschnittene dünne Gewebspartie mit Eosin-Methylenblau oder in den Versuchen mit Tuberkelbazillen mit der spezifischen Färbung nach Ziehl gefärbt.

Das mikroskopische Bild der gefärbten Präparate hat mit denen der Farbstoffversuche die größte Ähnlichkeit. Die relativ dicken Lymphgefäße, die durch reichliche Anastomosen miteinander verbunden sind, begleiten



die hyperämischen Blutgefäße. Das diese umspinnende Lymphkapillargeflecht weist die bereits oben näher beschriebenen Merkmale auf, so daß sie ohne weiteres als Lymphkapillaren anzusprechen sind.

Diese Charaktere der Lymphbahnen hier noch einmal zu wiederholen, erübrigt sich wohl, da bis auf den Inhalt die Schilderung der Bakterienpräparate sich mit der bei den Farbstoffversuchen gegebenen vollkommen deckt.

Was nun den Inhalt dieses Lymphkanalsystems anbetrifft, so besteht er aus Bakterien und Leukozyten; jedoch wechseln die Mengenverhältnisse der im Lumen befindlichen Organismen je nach der Art des Bakteriums und je nach der Zeit, die zwischen der Injektion der Bakterienemulsion und dem Tode des betreffenden Tieres liegt. Wenn man das Tier nach relativ kurzer Zeit, etwa $^1/_2$ Stunde nach der Injektion der Bakterienaufschwemmung tötet und das Mediastinalgewebe untersucht, so besteht der Inhalt der Lymphgefäße fast nur aus Bakterien. So konnte ich z. B. bei den Staphylokokkenversuchen an manchen Stellen des Präparates Kokkenhaufen, die richtigen Bakterienzylindern glichen, beobachten, wenn ich das Tier $^1/_2$ Stunde post injectionem tötete. Untersuchte ich dagegen Präparate von Tieren, die etwa 1 Stunde nach der Injektion geopfert waren, so sah ich jetzt schon eine ziemlich reichliche Beimengung von Leukozyten und zwar meistenteils polynukleärer Art innerhalb des Lumens der Lymphkapillaren. Um diese Zeit vermochte ich fast niemals einen reinen Bakterienzug mehr zu finden. Mit dem Auftreten der Leukozyten beginnt auch sofort die Phagozytose der Traubenkokken. Sehr instruktive Bilder erhielt ich bei den Versuchen mit Tuberkelbazillen. Hier scheinen die Lymphbahnen förmlich mit den Bazillen ausgegossen zu sein. Ein nach Ziehl gefärbtes Präparat habe ich Taf. II, Fig. 2 abbilden lassen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die in die Pleurahöhle injizierten Bakterien sich genau so wie feine Farbstoffemulsionen verhalten. Sofort nach der Injektion beginnt auch die Resorption durch die Lymphbahnen des Mediastinalgewebes; sie geht also mit großer Schnelligkeit vor sich, und zwar werden die Bakterien zunächst ohne Vermittlung der Phagozyten durch direkte Resorption von den Lymphkapillaren aufgesogen; erst nachträglich erfolgt innerhalb des Lumens der Lymphgefäße der Prozeß der Phagozytose.

Über die Herkunft der Leukozyten in den Lymphwegen konnte ich nichts Sicheres feststellen. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, daß sie hämatogener Natur sind. Das Mediastinum ist relativ arm an Blutgefäßen. Um die spärlichen Gefäße sieht man aber eine ziemlich reich-

liche Ansammlung von Leukozyten, deren Auswanderung aus den Blutgefäßen wohl anzunehmen ist. Wie aber diese Leukozyten in das Lumen der Lymphgefäße hineinkommen, darüber konnte ich nichts Sicheres in Erfahrung bringen.

Das weitere Schicksal der von den Lymphbahnen des Mediastinums aufgenommenen Bakterien wird je nach der Art und den biologischen Eigenschaften des Bakteriums, nach der Menge desselben verschieden sein. Zum Teil werden sie wohl schon innerhalb der Lymphbahnen von den bakteriziden Kräften des Pleuraexsudates unschädlich gemacht, zum Teil bleiben sie im Lumen liegen und entfalten nach Art und Fall pathogene Eigenschaften, zum Teil werden sie aber wohl mit dem Lymphstrom sekundär in die allgemeine Zirkulation und die inneren Organe des Organismus geführt, wo sie entweder vernichtet werden oder je nach Art und Virulenz zu einer Allgemeininfektion Veranlassung geben. Meerschweinchen und Kaninchen erkranken nach der Injektion von Tuberkelbazillen in typischer Weise mit einer diffusen tuberkulösen Entzündung des mediastinalen Bindegewebes.

Die vorstehenden Versuche bestätigen durchaus die grundlegenden Beobachtungen Jos. Kochs über die außerordentlich wichtige Rolle, die dem mediastinalen Bindegewebe mit seinem so reich entwickelten Lymphkanalsystem als aufsaugendes Organ sowohl für Flüssigkeiten als auch bei der bakteriellen Infektion der Pleurahöhle zukommt. Die Aufgaben, die das große Netz in der Peritonealhöhle als Transsudations- und Resorptionsorgan zu leisten hat, muß in der Pleurahöhle das mediastinale Bindegewebe erfüllen. Durch die vorstehenden Ausführungen werden Gewebsteile, mit denen man bisher nicht viel anzufangen wußte, in ein ganz anderes Licht gerückt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit möchte ich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die pleurale Injektion wird bei den Versuchstieren am besten in der vorderen rechten Axillarlinie des dritten oder vierten Interkostalraumes mit abgestumpfter Nadel nach Setzung eines kleinen Hautdefektes ausgeführt.

2. Die einem Versuchstiere in die Pleurahöhle eingespritzte Farbstoffemulsion ist nach 24 Stunden, sofern eine der Größe des Tieres entsprechende Dosis gewählt wird, aus der freien Pleurahöhle bis auf einen spärlichen Rest verschwunden.



3. An zelligen Bestandteilen enthält dieses nach 24 Stunden untersuchte geringe Pleuraexsudat zahlreiche polynukleäre Leukozyten, weit weniger zahlreiche Makrophagen und spärliche Lymphozyten. Bis auf letztere Zellart beteiligen sich durchweg alle Zellen an der Phagozytose der Farbstoffteilchen. Bei Verwendung einer feinen Tuscheemulsion finden sich die schwarzen Partikelchen in der von Jos. Koch geschilderten Anordnung innerhalb des Zellleibes in Form von kleineren oder größeren Kügelchen auf die Granula der Mikro- und Markophagen adsorbiert.

4. Der aus der freien Pleurahöhle verschwundene Farbstoff liegt fast ausschließlich in Form eines aus dickeren Strängen und feineren Verästelungen gebildeten Netzwerkes innerhalb des lockeren mediastinalen Bindegewebes.

5. Das mediastinale Gewebe, das sich je nach der Lage zum Herzen, den größeren Gefäßstämmen und zum Zwerchfell in das Mediastinum anterius und inferius zerlegen läßt, enthält ein außerordentlich reich entwickeltes und untereinander kommunizierendes Lymphgefäßkanalsystem.

6. Die mikroskopische Untersuchung der Partien des mediastinalen Gewebes zeigt, daß nach Injektionen von Farbstoffteilchen fast aller Farbstoff innerhalb der Lymphgefäße liegt und zwar teils frei, teils in Leukozyten eingeschlossen. Die spärlichen Blutgefäße des Mediastinums sind frei von fremdem Inhalt.

7. Spritzt man einem Versuchstier eine Aufschwemmung eines beliebigen Bacteriums in die Pleurahöhle, so findet sich analog den Farbstoffversuchen ein großer Teil der Mikroorganismen schon kurze Zeit, $^1/_2$ bis 1 Stunde nach der Injektion, innerhalb des Lymphkanalsystems des mediastinalen Gewebes, ebenfalls teils frei, teils in Leukozyten eingeschlossen.

8. Die Resorption von Bakterien oder sonstigem fremden Inhalt geschieht also innerhalb der Pleurahöhle durch das Lymphgefäßsystem des mediastinalen Gewebes. Weder die Blutgefäße noch die übrigen inneren Organe der Thoraxhöhle sind an der Resorption von Flüssigkeiten oder Bakterien beteiligt. Nur die die Interkostalgefäße begleitenden Lymphbahnen nehmen noch, aber in sehr geringer Weise, an der Aufsaugung von fremdem Inhalt innerhalb des Brustraumes teil.

9. Die Aufnahme von Bakterien oder anderen korpuskulären Elementen durch die mediastinalen Lymphbahnen ist teils eine direkte, teils eine indirekte, mit Hilfe der Phagozyten. Quantitativ überragt die direkte Resorption die indirekte bei weitem. Innerhalb des Lumens der Lymphgefäße findet jedoch gewöhnlich eine sekundäre energische Phagozytose der aufgenommenen fremden Elemente statt.

10. Hervorzuheben ist die außerordentliche Schnelligkeit und Massenhaftigkeit der Bakterienresorption seitens der Lymphbahnen des Mediastinums. Die Aufsaugung setzt fast augenblicklich nach der Injektion in die Pleurahöhle ein.

11. Dem mediastinalen Gewebe kommt also nach den grundlegenden Versuchen von Jos. Koch und Bucky, sowie meinen eigenen experimentellen Beobachtungen eine hohe Bedeutung als Transsudations- und Resorptionsorgan der Brusthöhle zu.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

Fig. 1. Brustkorb eines Meerschweinchens, dem 2 ccm einer Tuscheemulsion in die rechte Pleurahöhle injiziert, und das nach 24 Stunden getötet wurde. Brustkorb in toto gehärtet. Die rechte Brusthöhle weit aufgemacht, und der ganze Brustkorb in sagittaler Richtung gedehnt (vgl. S. 197).

Fig. 2. Mikroskopisches Bild (Oc. 2, Zeiss $^1/_{12}$ Immers.) von einer dünnen Partie des Mediastinalgewebes eines Meerschweinchens; 2 Stunden nach der Injektion einer Tuberkelbazillenemulsion getötet. Die Lymphbahnen wie ausgegossen mit Tuberkelbazillen. Färbung nach Ziehl.

Fig. 3. Starke Phagozytose von Bacterium coli innerhalb eines mediastinalen Lymphgefäßes eines 2 Stunden post injectionem getöteten Meerschweinchens.



[Aus dem Health-Bureau (Jewish-Agricultural-Experiment-Station) Jerusalem.]
(Leiter: Dr. Brünn.)

Die Malaria Jerusalems und ihre Bekämpfung.

Von

Dr. **W. Brünn** und Dr. **L. Goldberg.**

Im Frühjahr 1912 wurde durch den Philantropen Nathan Straus, Newyork, ein Gesundheitsamt errichtet zur Bekämpfung der endemischen Krankheiten insbesondere der Malaria. Das Gesundheitsamt nahm im August seine Tätigkeit auf mit der Bekämpfung der Malaria in der stark verseuchten jüdischen Kolonie Hédéra (Arzt: Dr. Martin Nathan) und mit Feststellung der Ursachen und der Verbreitung der Malaria in Jerusalem, um dann im folgenden Jahre mit der Bekämpfung der Malaria in Jerusalem zu beginnen. Doch haben wir uns hier nicht allein auf Malaria beschränkt, sondern in unserem vollständig ausgerüsteten bakteriologischen und serologischen Laboratorium alle vorkommenden Krankheiten untersucht. Als im September 1912 Hr. Prof. Mühlens, gesandt von einem Komitee in Berlin zur Malariaforschung, hier zu arbeiten begann, verständigten wir uns mit ihm dahin, daß er die christliche und mohammedanische Bevölkerung der Stadt untersuchte, wir die jüdische.

Es ist uns ein Bedürfnis, der Stadtbehörde, die uns sofort Laboratoriumsräume im Regierunghospital zur Verfügung stellte, für ihr uns stets bewiesenes Entgegenkommen zu danken und ebenso den Ärzten, die uns durch Übersendung von Material unsere Arbeit ermöglichten.

Jerusalem ist eine Stadt von ungefähr 70000 Einwohner — die genaue Ziffer läßt sich nicht feststellen — darunter 45000 Juden, 10000 Mohammedaner, 15000 Christen. Obwohl 750^{m} über dem Meeresspiegel liegend, mit einem an sich durchaus gesunden Klima hat es unter allerhand Krankheiten in hohem Maße zu leiden.

Als Gründe hierfür kommen 2 Dinge in Betracht:

1. Die große Armut des überwiegenden Teiles der Bevölkerung.

2. Das bisher geringe Verständnis der türkischen Behörden für hygienische Fragen.

Mindestens $^3/_4$ der Stadt lebt von Spenden, die aus der ganzen Welt nach Jerusalem, der heiligen Stadt, gehen; und diese gibt es bei Juden, Christen und Mohammedanern, wenn auch hier und da eine etwas feinere

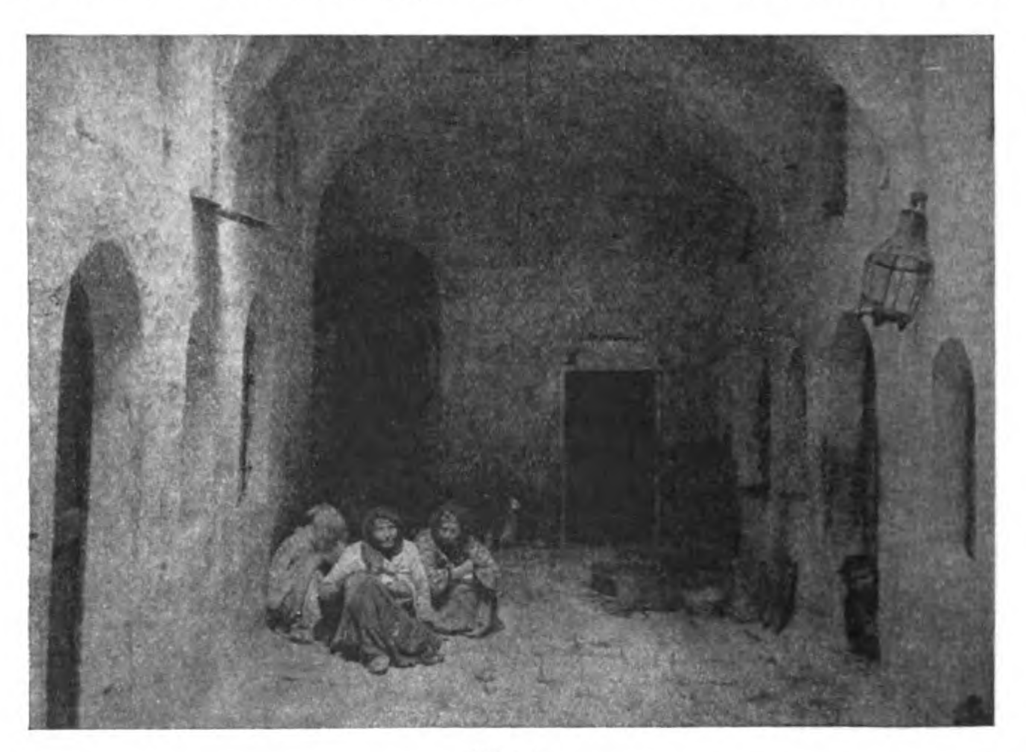


Fig. 1.
Marokkanisches Viertel (Altstadt).

Form bevorzugt wird. Man wüßte auch nicht, wie eine so große Bevölkerung existieren könnte in einer Stadt, ohne genügende Arbeitsgelegenheit, ohne Industrie, ohne wesentlichen Handel, ohne kaufkräftige Umgegend. Die Spenden, die jährlich nach Jerusalem fließen, obwohl an sich reichlich, genügen doch für den Unterhalt der Bevölkerung nicht, zumal die Verteilung der eingegangenen Spenden nach Landsmannschaften vor sich geht. So z. B. erhalten die Juden in Jerusalem, die aus Ungarn stammen, das Geld eingeteilt, das in Ungarn für sie gesammelt wurde. Daher kommt es, daß die Vertreter von weniger leistungsfähigen Ländern in einem grausamen Elend dahinvegetieren; nehmen wir die Marokkaner in der Altstadt (s. Fig. 1) — und hier wäre die erste hygienische

Forderung: Schaffung von Brot, von Lebensmitteln. Die Altstadt mit ihren engen krummen Gassen, mit 3- bis 4 stöckigen Häusern, in deren untere Stockwerke zuweilen nicht einmal das Tageslicht hindringt, geschweige, etwa die Sonne, hat die menschenunwürdigsten Wohnungen Jerusalems

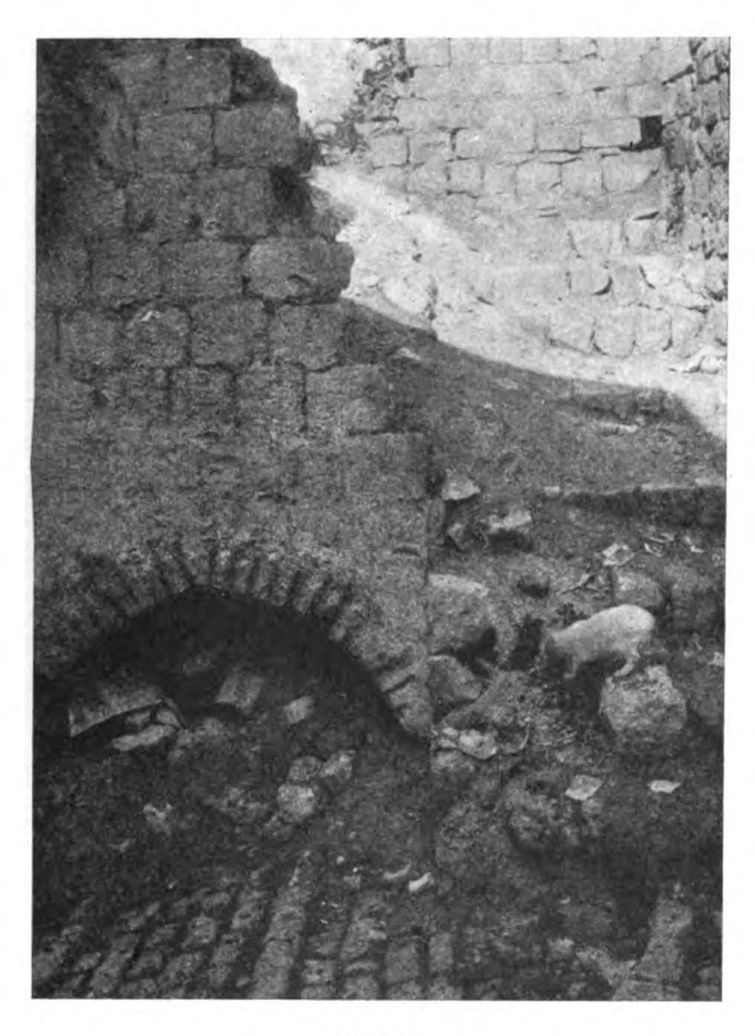


Fig. 2.
Abfälle auf der Straße.

aufzuweisen. Die Abfälle werden auf die Straße geworfen (s. Fig. 2) oder in den Hof. Die Aborte befinden sich in einer schauerlichen Verfassung; Abortanlage und Trinkwasserzisterne ruhen meist in friedlicher Nachbarschaft (s. Fig. 3). Wohl ist eine Einrichtung vorhanden, um Abfälle und Dünger fortzuschaffen, und ab und zu sieht man auch einen Müllwagen; doch Höfe und Straßen sahen wir nie sauber.

Die Altstadt wird durchzogen von 2 seit altersher bestehenden übereinandergebauten Kanalisationssystemen, die die Abwässer der Stadt ins Kidrontal führen. Dort werden sie von den Bauern von Siloah zur Düngung und Bewässerung der ausgedehnten Gemüsefelder benutzt. Die obere Leitung ist nur gebaut, um bei starken Regengüssen die untere zu entlasten, führt also nur im Winter Wasser.



Fig. 3.
Hof in der Altstadt. Hof, das Dach der Zisterne, rechts ein Aufbau, zeigt unten die Öffnung *a*. Nebenan der offene Abort *c*, daneben die Dachrinne *b*.

Wegen der Enge und des Schmutzes in der Altstadt herrschte seit langem das Bestreben, sich außerhalb der Mauern anzusiedeln, und so ist allmählich die Außenstadt entstanden, die heute den größeren Teil der Jerusalemer Bevölkerung faßt. Abgesehen von europäischen Siedlungen — z. B. deutsche Kolonie, amerikanische Kolonie —, sind jedoch die hygienischen Verhältnisse nicht befriedigender. Sichron Moscheh ausgenommen gibt es keine Kanalisation. Die Straßen starren vor Abfällen und Dünger. Das Schmutzwasser wird in die Abortgrube gegossen (s. Fig. 4). Die Wohnungen sind klein und infolge der Bodenspekulation teuer. Die Moskitoplage ist noch größer als in der Altstadt, und, wie wir später sehen werden, sogar die Malariamorbidität.

In alter Zeit wurde Jerusalem mit Wasser durch eine Leitung versorgt, die das Wasser von den Salomonischen Teichen in vielen, 75 km langen Windungen zuführte. Sie ist seit einigen Jahren wieder hergestellt, endet in der Omarmoschee, wo die Wassermenge heute nur für die

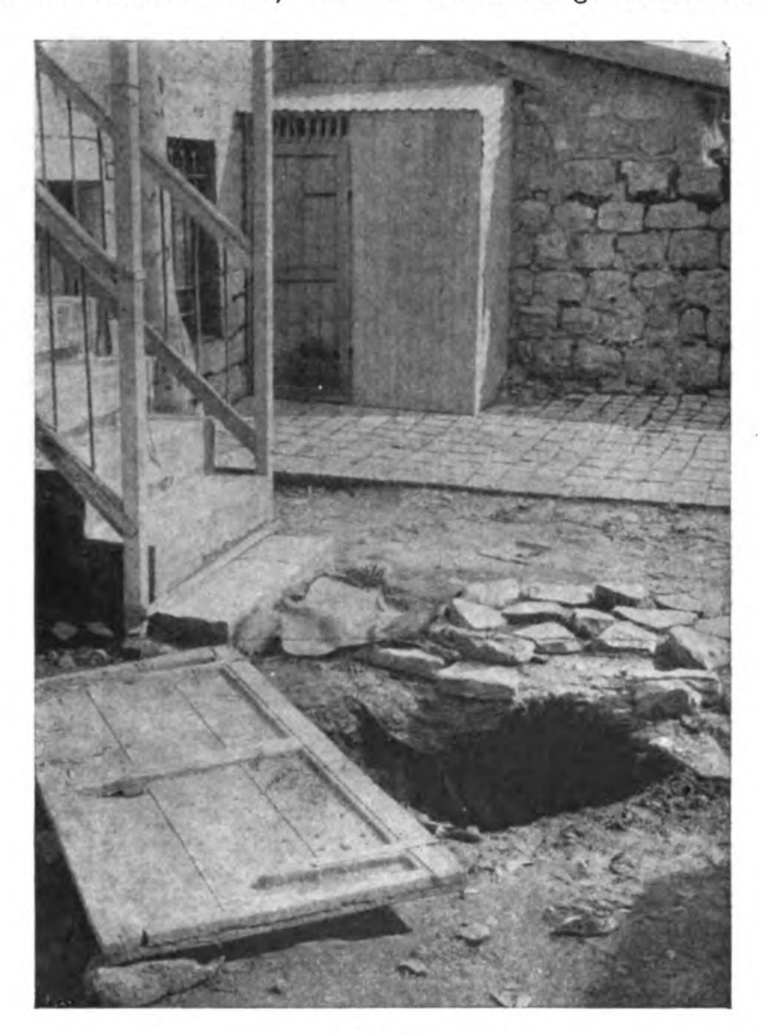


Fig. 4.
Abortgrube in Sukkath Schaloni. Große Öffnung, nur mit einer Tür bedeckt.

Waschungen und Bäder genügt. Außerdem gibt es von altersher einige große Wasserbecken, Birket Hammam, Birket Mammilla, Birket es Sultan, deren Wasser früher für Bäder und auch zum Trinken verwendet wurde, jetzt fast nur zum Besprengen der Straßen dient.

Heute versorgt der Regen die Bevölkerung Jerusalems mit Wasser. Das Regenwasser wird in Zisternen aufgefangen, 4, 5 bis 6 m tiefe, aus Stein gebaute, in den Hof oder das Fundament des Hauses eingelassene

Höhlen, die innen zementiert sind. In der Altstadt bildet der Hof gewöhnlich das Dach der Zisterne (s. Fig. 1, 3, 5). Sonst ragen sie 30 bis 50 cm über die Erdoberfläche hervor (s. Fig. 6). Auf der Zisterne befindet sich ein viereckiger $^1/_2$ bis $^3/_4$ m hoher Aufbau, der in der Mitte

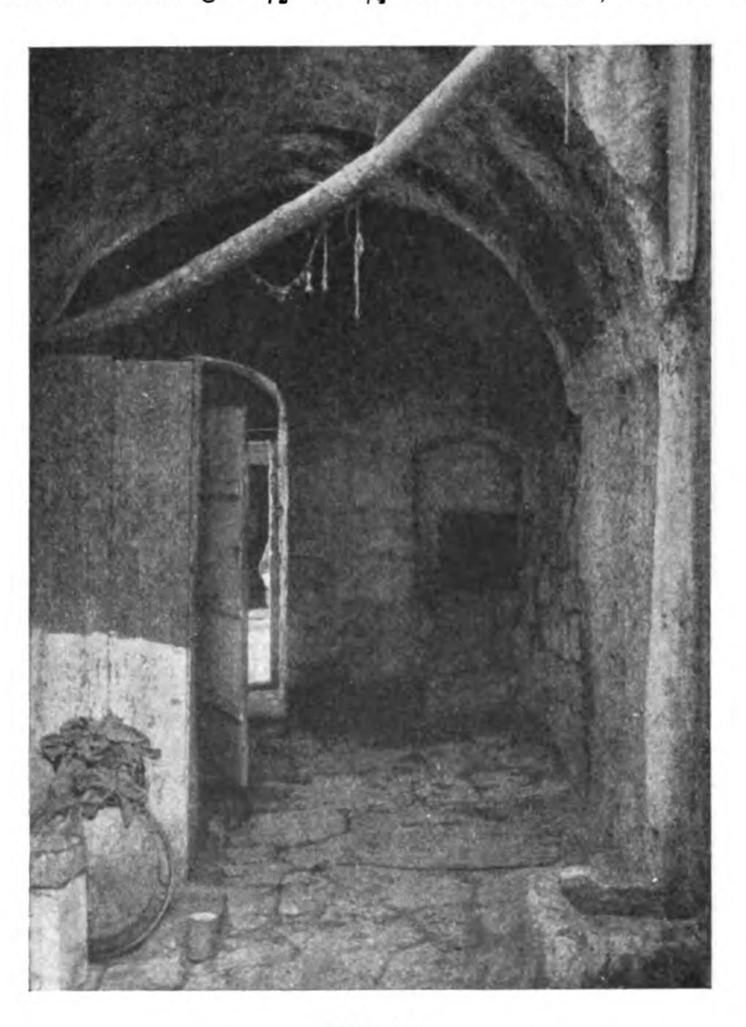


Fig. 5.
Hof (Altstadt). Vorn rechts endet die Dachrinne frei; unten kleines Bassin. Im Hintergrund Aufzugskanal.

eine runde 30 bis 40 cm im Durchmesser haltende Öffnung aufweist, die mit einem Eisengitter verschlossen ist — verschlossen nicht etwa aus hygienischen Gründen, sondern damit das kostbare Wasser nicht von den Nachbarn gestohlen wird (s. Fig. 3, 7, 8). Im Spätherbst herrscht nämlich jährlich Wassermangel. Das Wasser wird mit einem kleinen Eimer hochgezogen; selten trifft man Pumpen (s. Fig. 6). In den von Wohl-



Fig. 6.
Gut gebaute Zisterne mit Pumpe; daneben alte Schöpföffnung mit Drahtgitter verschlossen.

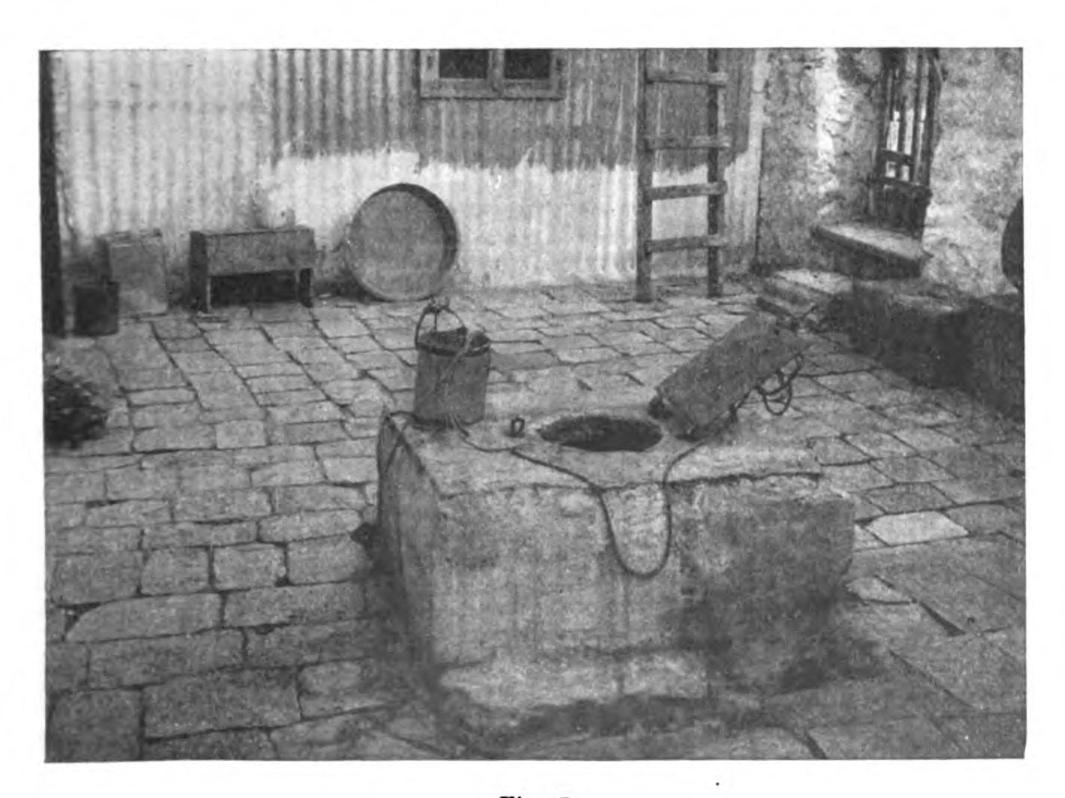


Fig. 7.
Typische Zisterne. Gewöhnlicher Schöpfeimer.

tätigkeitswegen erbauten Häuservierteln gibt es für eine Reihe von Häusern eine große Zisterne (s. Fig. 8, 15). Hier befindet sich der Gitterschlüssel bei einem Vertrauensmann, der die Zisterne nur zu bestimmten Stunden öffnet, und beim Wasserschöpfen wird ängstlich darauf gesehen, daß nur ja niemand mehr aufzieht als der Nachbar. In der Altstadt, wo die Höfe klein sind, fehlt meist der Aufbau; der Aufzugskanal liegt in der Grundmauer des Hauses (s. Fig. 5). Ebenso in der Außenstadt, wo das Haus



Fig. 8.
Zisterne für mehrere Häuser. Links vorn Einlaufbassin mit Holz bedeckt; an der Seite viele Öffnungen (Schirm!).

auf der Zisterne steht (s. Fig. 9). Selten kommt es vor, daß der Aufzug aus Holz besteht (s. Fig. 10). Bei manchen Zisternen findet man Klärbecken (s. Fig. 11). Das Regenwasser, das hier auf das Dach der Zisterne fällt, läuft durch die Rinne *a* in das Becken *c* hinunter, von wo es, wenn es die nötige Höhe erreicht hat, durch das Loch *b* in die Zisterne fließt. Bei anderen Zisternen (s. Fig. 12) ist seitlich ein Becken angebracht, das den auf das Dach der Zisterne fallenden Regen sammelt. In solchen ganz zwecklosen Becken steht infolgedessen den ganzen Winter hindurch Wasser und bildet für Tausende von Mücken einen willkommenen Brutplatz.

Das Regenwasser wird den Zisternen durch Dachrinnen zugeführt, die teilweise frei draußen enden (s. Fig. 5), meistens in die Zisterne hin-

eingeleitet sind (s. Fig. 11, 12), häufig in mangelhaftem Zustand, nicht gut ineinandergefügt, mit Löchern und Beulen.

Erschreckend ist, zu sehen, was mit dem Wasser noch alles in die Zisterne hineingespült wird. Auf Fig. 3 sehen wir, daß der ganze Hofrat



Fig. 9.
Zisterne Sichron Tobia. Aufzugskanal in der Grundmauer des Hauses.
Dachrinne endet außerhalb der Zisterne.

vom Regen durch Loch *a* in die Zisterne gespült werden muß. Die Dachrinne *b* geht am Abort *c* vorbei in die Zisterne. In der Figur 13 sieht man ein Loch im Aufbau, dicht daneben fließt der Straßengraben vorüber. In Figur 14 sehen wir ungeheuren Schmutz neben der Zisterne, und in Figur 15 sieht man, wie der Straßenschmutz *a* durch die Öffnung *b* in die Zisterne hineingespült wird. Derartige Zustände sind nicht etwa herausgegriffen; man kann sie überall finden.

Als Brutstätten für die Überträger der Malaria, die Anophelesmücken, haben wir im Sommer nur die Zisternen gefunden. Zwar gibt es die bereits erwähnten großen Wasserbassins Birket Mammilla, Birket Hammann, Birket Sultan; doch fanden wir dort nie Larven. In den ersten beiden leben zahlreiche Frösche, die die Larven wohl wegfressen. Nur in den Bethesdateichen fanden wir Larven (Culex).

Die gewöhnliche Eingangspforte für die Mücken ist das Schöpfloch, das ja nur mit einem Eisengitter verschlossen ist. Durch dieses können

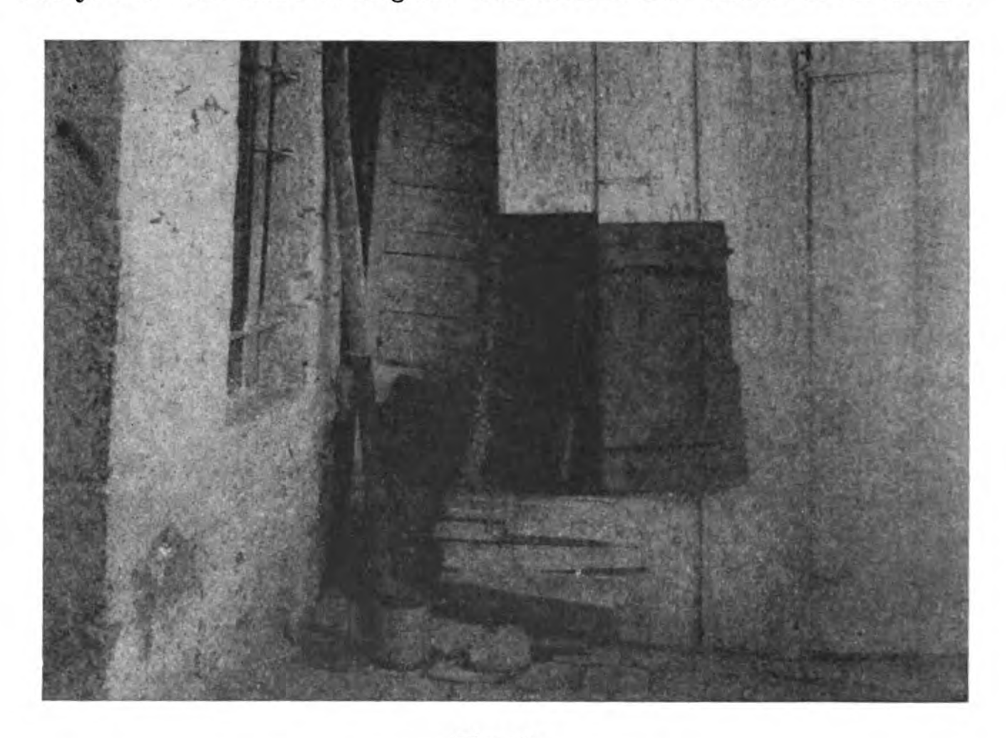


Fig. 10.
Zisterne Beth. Israel. Aufzug aus Holz.

die Mücken zur Eierablage bequem eindringen, und die junge Brut hinausgelangen. Doch neben dieser Hauptöffnung haben die meisten Zisternen noch allerhand unnötige, meist aus Nachlässigkeit entstandene Löcher. Figur 6 veranschaulicht uns schon eine gute Zisterne mit Pumpe; doch hat man neben der Pumpe die ursprüngliche Schöpföffnung bestehen lassen. In Figur 16 sehen wir einige Steine am Aufbau gelöst. In Figur 17 sieht man den Aufbau nicht fest gefügt, und außerdem bemerkt man an der Hauswand 2 kleine Löcher, durch die das Wasser vom Dach in die Zisterne läuft. In Figur 18 findet man eine tadellos verschlossene Zisterne und unten im Aufbau eine Öffnung, hier wohl mit Absicht zum

Auffangen des Hofwassers gemacht. Endlich zeigt uns Figur 8 ein Zulaufbassin an einer Zisterne, das mit Holz bedeckt und undicht ist; denn an der Seite sieht man zahlreiche Löcher. Doch ist alles das verständlich, wenn man bedenkt, daß die Zisternen nur bedekt werden, um Verun-

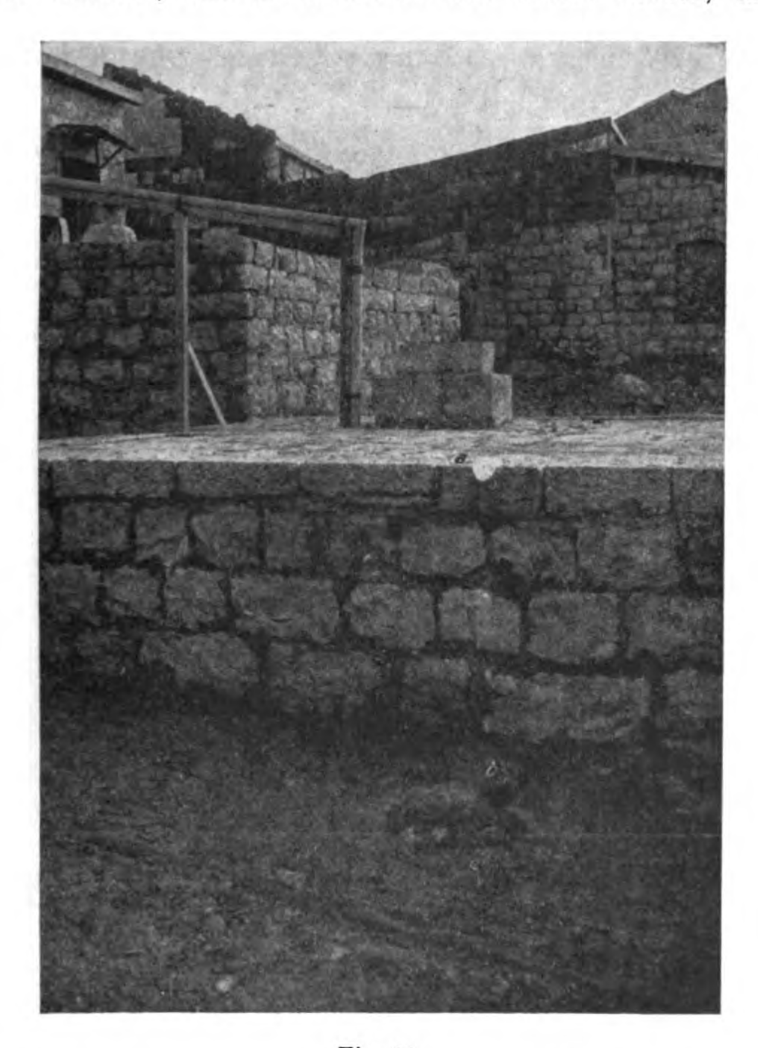


Fig. 11.
Zisterne Nahlath Zion: Oben am Rand die Rinne *a*. Vorn unten das Becken *c*. Daneben das Loch in der Zisterne *b*.

reinigungen zu vermeiden, und daß die Bevölkerung über die Entstehung der Mückenplage und die Ursache der Malaria nicht aufgeklärt war.

Wie gesagt, sind im Sommer und im Herbst die Zisternen wohl die einzige Brutgelegenheit für die Moskitos. Anders jedoch im Winter und Frühling. Infolge der starken Regengüsse bilden sich an tiefergelegenen Plätzen Pfützen, sogar kleine Teiche (s. Fig. 23), in denen zahlreiche Mücken, auch Anopheleslarven, zu finden waren (s. Fig. 19 bis 23).

Unsere Untersuchungen zur Feststellung der Malaria erstreckten sich über ganz Jerusalem. Wir haben 616 Personen auf eine Vergrößerung der Milz untersucht, da eine Milzvergrößerung in Malariagegenden in 95 Prozent für chronische Malaria spricht. Weiter haben wir bei 2055 Personen das Blut auf Malariaparasiten hin untersucht. Die Untersuchten stammen zum Teil aus geschlossenen Anstalten. Die andern haben wir

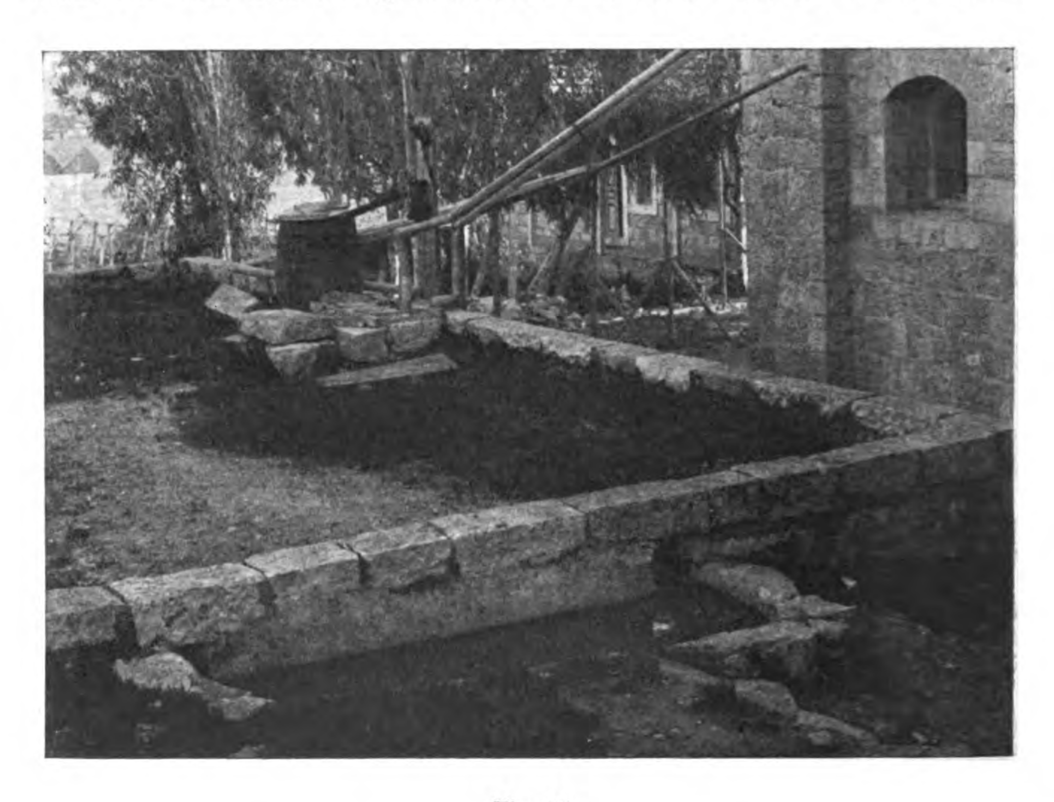


Fig. 12.
Auffangebecken an einer Zisterne.

bekommen, indem wir in die Wohnungen gingen und dort wahllos möglichst ganze Familien untersuchten.

Milzuntersuchung.

Die 616 Fälle verteilen sich folgendermaßen (vgl. Tabelle I).

Wir haben also das ganz unerwartete Ergebnis, daß 59 Prozent der Untersuchten eine Vergrößerung der Milz aufweisen, erschreckend, wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Fälle nicht ausgesucht sind.

Wir haben also unter 5 Untersuchten bei dreien Zeichen chronischer Malaria nachgewiesen.

Tabelle I.

Nr.	Ursprung	Anzahl	Milz-vergrößerung	Prozentsatz
1	École des filles	83	37	45
2	Internat (Alliance)	32	13	40·5
3	Externat (Alliance)	28	16	57
4	Spitzenschule	110	48	44
5	Bezalel	78	43	55
6	Weberei (Alliance)	49	38	77
7	Bikkur Holim	12	9	75
8	Nahlath Zion	66	49	74
9	Méah Schéarim	53	38	70
10	El Arschah	28	16	58
11	Schule (Méah-Schéarim) . . .	23	19	83
12	Zalunid Zorah (Altstadt) . . .	22	14	64
13	Siloah	32	25	78
		616	365	59

Bei den Milzvergrößerungen unterschieden wir 4 Grade:

I. Grad: Milz palpabel.
II. „ : Milz bis 2 Querfinger den Rippenbogen überragend.
III. „ : Milz darüber hinaus bis zum Nabel vergrößert.
IV. „ : Milz den Nabel überragend.

Nach dieser Einteilung gliedern sich die Vergrößerungen wie folgt (vgl. Tabelle II):

Tabelle II.

Nr.	Ursprung	Untersuchte	Mit Milz-vergrößerung	Grad der Vergrößerung I	II	III	IV
1	École des filles	83	37	20	14	2	1
2	Internat (Alliance)	32	13	9	4	—	—
3	Externat (Alliance)	28	16	11	3	2	—
4	Spitzenschule	110	48	21	15	8	4
5	Bezalel	78	43	29	9	4	1
6	Weberei (Alliance)	49	38	17	12	8	1
7	Bikkur-Holim	12	9	5	3	—	1
8	Nahlath-Zion	66	49	14	22	9	4
9	Méah Schéarim	53	38	19	11	4	4
10	El Arschah	28	16	9	4	2	1
11	Schule Méah Schéarim . . .	23	19	7	7	3	2
12	Zalunid Zorah (Altstadt). . .	22	14	6	4	2	2
13	Siloah	32	25	7	9	6	3
		616	365	174	117	50	24

Im ganzen also unter 365 Vergrößerungen:

I. Grades	. . . .	174 = 47·5	Prozent
II. „	. . . .	117 = 33	„
III. „	. . . .	50 = 14	„
IV. „	. . . .	24 = 6·5	„

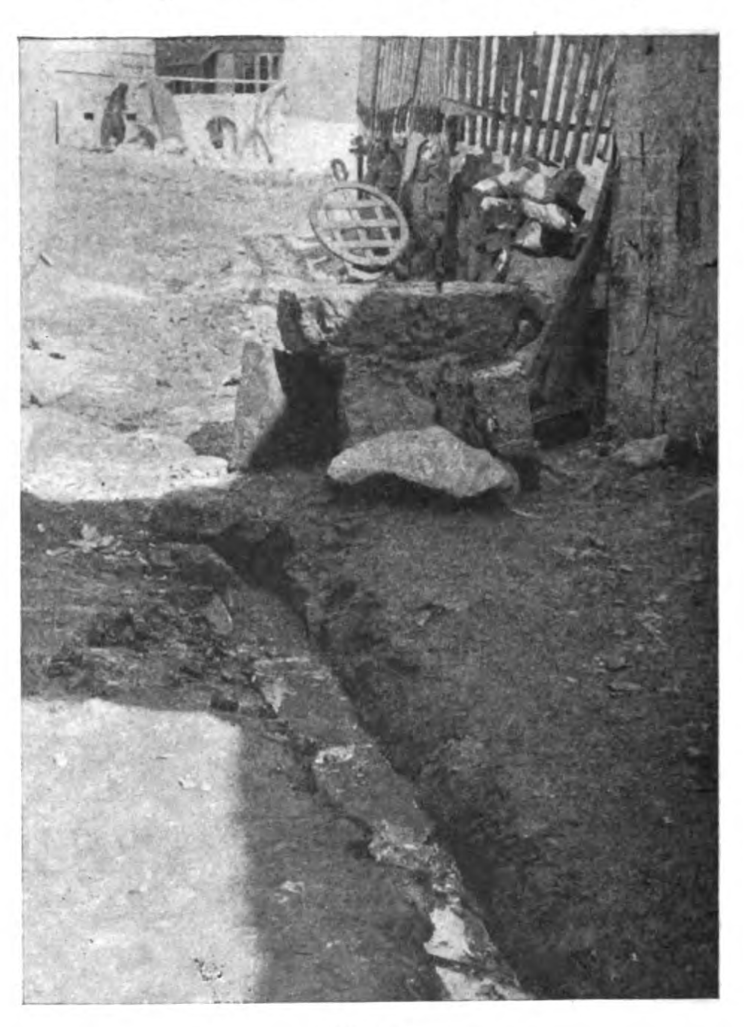


Fig. 13.
Zisterne in Ewen Israel; Stein im Aufbau gelöst; daneben Straßengraben.

Welchen Einfluß hygienische Lebenweise und gute Verpflegung ausüben, sieht man hier wieder an 3 Abteilungen derselben Anstalt, der Alliance Israélite Universelle

an: 2. dem Internat,
3. dem Externat,
6. der Weberei.



Fig. 14.
Große Zisterne in Nahlath Zewi; daneben ungeheurer Schmutz.

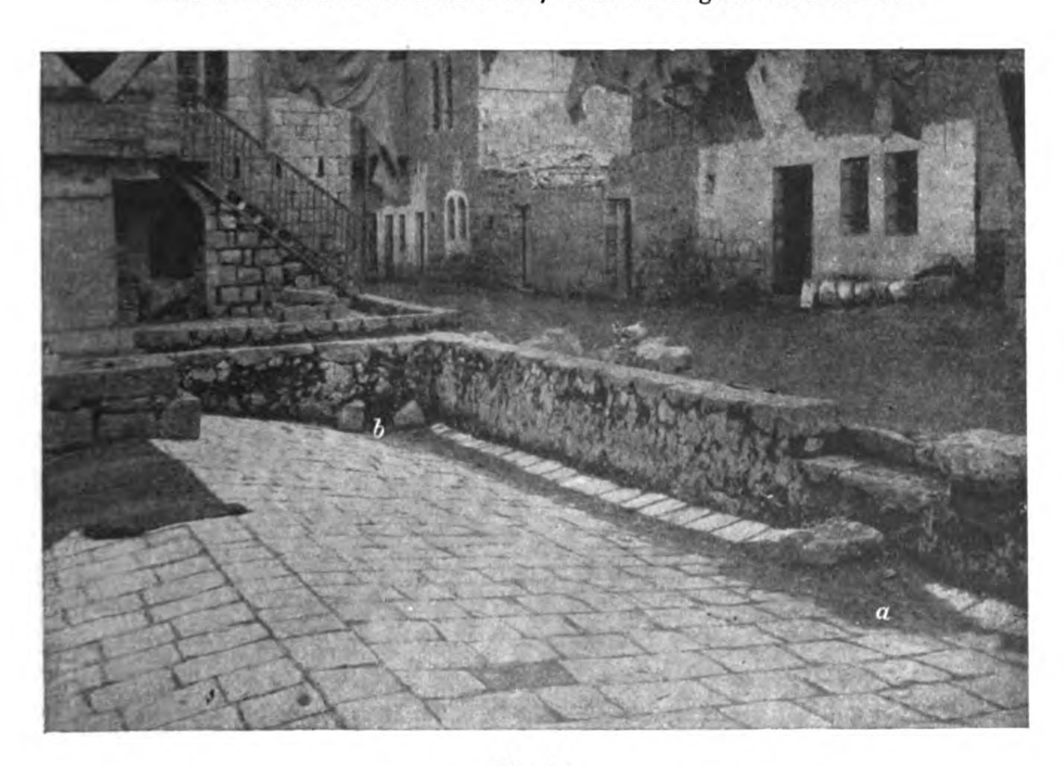


Fig. 15.
Zisterne Méah Schéarim. Auf der Zisterne Straßenschmutz *a*.
Links Öffnung in der Zisterne *b*.



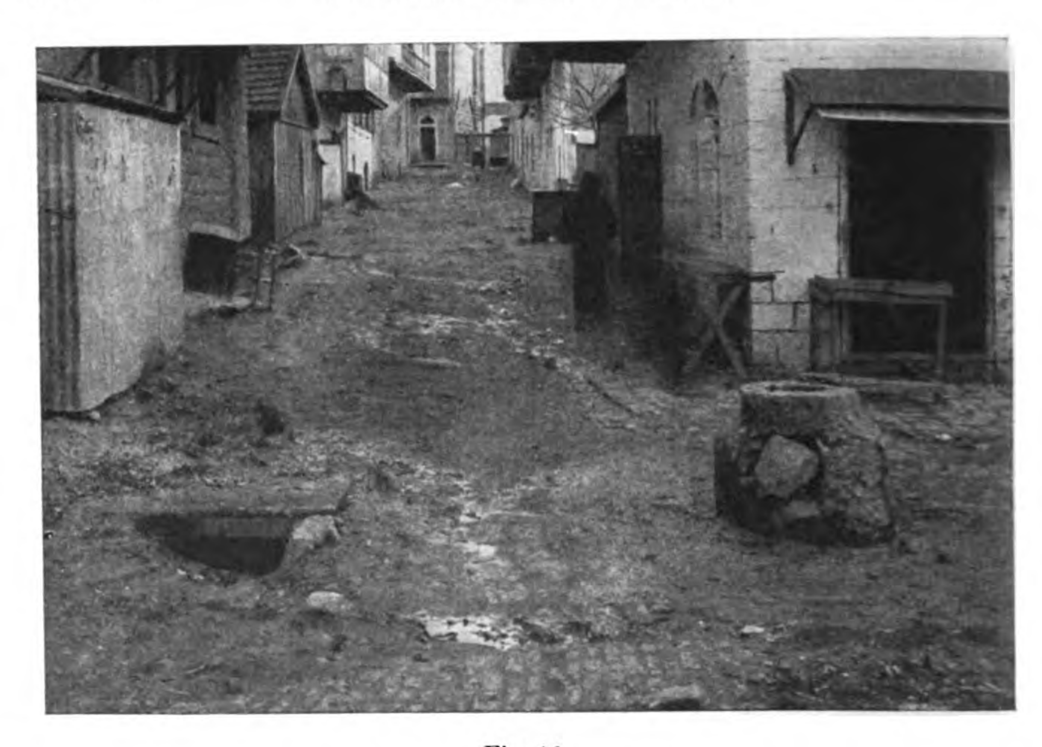


Fig. 16.
Méah Schéarim, Stein im Aufbau gelöst.



Fig. 17.
Große Zisterne Nahlath Zion. Aufbau undicht; an der Hauswand zwei kleine Löcher in der Zisterne. (×)



Fig. 18.
Gut geschlossene Zisterne mit einem Loch im Aufbau.



Fig. 19.
Pfützen im Zadik Schimon. (×)





Fig. 20.
Pfützen im Nahlath Zion. (×)

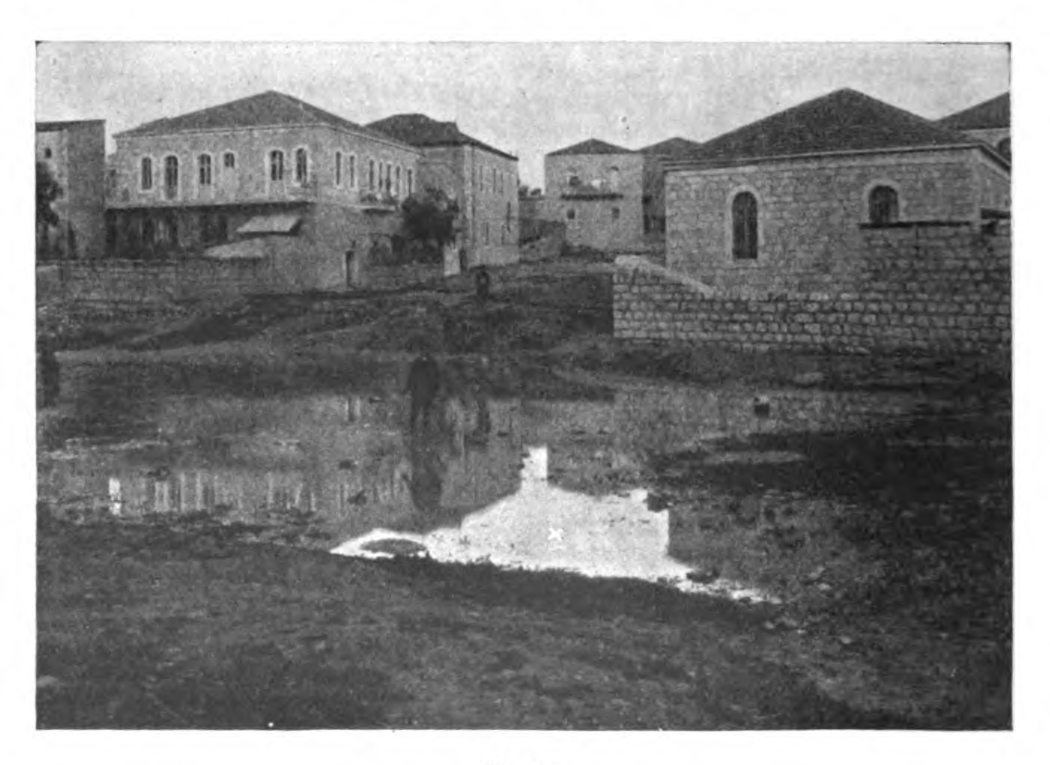


Fig. 21.
Tümpel Bab el Amud. (×)



Fig. 22.
Tümpel Sichron Moschee. (×)



Fig. 23.
Teich Zadik Schimon. (×)

Die Schüler des Internats wohnen und essen in der Alliance, die des Externats wohnen draußen und essen in der Anstalt, die der Weberei essen und wohnen außerhalb:

Internat 32—13 mit vergrößerter Milz = 40·5 Prozent
Externat 28—16 „ „ „ = 57 „
Weberei 49—38 „ „ „ = 77 „

Um es gleich hier vorwegzunehmen, ergab die Blutuntersuchung beim

Internat 7 Infizierte = 22 Prozent
Externat 8 „ = 29 „
Weberei 19 „ = 34 „

bestätigte also die Milzbefunde.

Blutuntersuchung.

Es wurden in der Zeit vom 20. August bis 15. Januar 2055 Blutunteruchungen vorgenommen. — Die laufenden Untersuchungen sind nicht mit eingerechnet. — In 442 Fällen wurden Parasiten im Blut gefunden, d. h. in 21·5 Prozent. Mit anderen Worten: Jeder 5. Bewohner Jerusalems hat im Sommer und Herbst Parasiten im Blut.

Tabelle III.
Die verschiedenen Formen der Malaria.

Stadtviertel	Zahl	Infizierte	Prozentsatz	Tertiana	Quartana	Tropika	Mischinfektion
École des filles	83	21	25	3	2	16	—
Internat	32	7	22	1	1	5	—
Externat	28	8	29	1	1	6	—
Nahlath Zion	66	25	38	8	3	13	1
El Arschah	28	7	25	4	—	3	—
Haret el Midon	47	19	40·5	3	4	12	—
Weberei (Alliance)	49	16	34	3	2	11	—
Bikkur Holim	12	4	33	—	3	—	—
Siloah	32	9	28	1	1	6	1
Méah Schéarim	53	12	23	2	2	8	—
Spitzenschule	110	21	19	2	3	13	3
Lehrerseminar	95	15	15·7	2	4	9	—
Hilfs-Mädchenschule	311	55	17·6	7	25	23	—
Lämelschule	279	59	21	10	13	35	1
Gymnasium	73	9	12·5	1	3	5	—
Bezalel	286	38	13·5	7	7	23	1
Polikliniken	215	73	35	5	16	47	5
Alliance (Knaben)	256	45	18	9	7	28	1
	2055	442	21·5	70 (16%)	94 (21%)	265 (60%)	13 (3%)

Wie aus Tabelle III hervorgeht, fanden wir unter den 442 Fällen:

70 Fälle = 16 Prozent von Tertaina
94 „ = 21 „ „ Quartana
265 „ = 60 „ „ Tropika
13 „ = 3 „ „ Mischinfektionen.

Die zahlreichen Doppelinfektionen sind hier weiter nicht berücksichtigt.

Über das Alter der Untersuchten gibt uns folgende Tabelle Auskunft. Wie ersichtlich, haben wir 5 Abteilungen eingerichtet: 0 bis 5 Jahre, 6 bis 10 Jahre, 11 bis 15 Jahre, 16 bis 20 Jahre, 21 und darüber.

In der ersten Hälfte jeder Rubrik findet man die Zahl der Untersuchten, in der zweiten die Zahl der Infizierten (vgl. Tabelle IV):

Tabelle IV.
Lebensalter der Infizierten.

Ursprung	0—5 J.		6—10 J.		11—15 J.		16—20 J.		21 J. u. darüber	
	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte
École des filles	—	—	25	6	53	15	5	—	—	—
Internat	—	—	—	—	14	2	18	5	—	—
Externat	—	—	—	—	13	2	12	5	3	1
Nahlath Zion	8	4	18	8	12	3	6	3	20	7
Weberei	—	—	2	1	12	4	14	5	21	6
Bikkur Holim	—	—	—	—	1	—	—	—	11	4
Siloah	10	4	2	—	5	2	3	2	10	1
Spitzenschule	—	—	3	—	92	18	15	3	—	—
Polikliniken	51	28	42	15	21	12	15	5	84	12
Gymnasium	—	—	26	6	38	3	3	—	6	—
Alliance	—	—	67	16	168	26	10	1	—	—
Bezalel	—	—	6	—	88	17	84	11	84	10
Hilfs-Mädchenschule	1	1	173	34	123	18	3	1	5	—
Lämelschule	—	—	73	17	173	36	13	3	8	3
Lehrerseminar	—	—	—	—	5	1	66	9	20	—
	70	37	337	103	518	159	267	53	272	48
	(53%)		(30%)		(30%)		(20%)		(17·5%)	

Es hat sich nun ergeben, daß infiziert waren Personen von:

0—5 Jahren in 53 Prozent
6—10 „ „ 30 „
11—15 „ „ 30 „
16—20 „ „ 20 „
21 und darüber „ 17·5 „

Tabelle
Infektion nach Stadt-

Stadtviertel	Lehrer-seminar		Knaben-alliance		Lämel		Spitzen-schule		Bezalel	
	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte
Achwah	12	3	—	—	9	6	—	—	5	1
Beth-Israel	1	—	—	—	21	4	4	—	3	2
Ewen Israel	3	1	14	4	5	2	—	—	1	—
Montefiore	6	—	27	2	22	1	10	1	5	—
Maharé Jehouda	3	1	25	5	12	6	8	1	6	—
Maskéreth Mosché	1	—	1	—	8	3	—	—	9	2
Mischkenoth Israel	—	—	5	—	4	—	6	4	29	4
Méah-Schearim	4	2	7	—	26	7	20	7	21	3
Nahlath Schina	—	—	15	2	15	1	8	—	14	3
Nahlath Zion	1	—	24	6	4	3	5	1	26	5
Ohel Mosché	3	—	21	2	13	4	1	—	9	—
Rehoboth	2	—	4	2	3	—	7	3	3	1
Schaaré Jédeg	2	—	4	—	—	—	—	—	2	1
Sichron Mosché	38	6	3	2	40	9	8	1	8	1
Sichron Jubiah	2	—	8	2	7	2	—	—	17	1
Abessinisches Viertel	2	—	—	—	3	—	—	—	—	—

Ein Befund, der ja ganz gewöhnlich ist und genügend bekannt.

Von den Untersuchten wohnten:

254 in der Altstadt,
1759 „ „ Außenstadt,
32 „ Siloah (Dorf bei Jerusalem).

Von den 254 Altstadt infiziert 41 = 16·5 Prozent
„ „ 1759 Außenstadt infiziert 392 = 22·3 „
„ „ 32 Siloah 9 = 28 „

Die größte Prozentziffer fanden wir in Haret el Midon:

Unter 47 = 19 infiziert = 40·5 Prozent,

und in Nahlath Zion:

unter 66 des verschiedensten Lebensalters 25 infiziert = 38 Prozent.

In der Außenstadt sind die Viertel meist räumlich getrennt, und darum ist es von Interesse, den Prozentsatz der Infizierten nach den hauptsächlichsten Vierteln zu betrachten (vgl. Tabelle V).

Man erschrickt bei den Befunden, wenn man bedenkt, daß Jerusalem auf den Bergen liegt, kein Wasser, keine Sümpfe aufweist. Erst die Be-



V.

vierteln (Außenstadt).

Polikliniken		École des filles		Nahlath Zion		Mädchenhilfsverein		Gymnasium		Méah-Schéarim		Gesamtzahl	Infizierte	Prozentsatz
Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte	Zahl	Infizierte			
—	—	—	—	—	—	15	3	7	1	—	—	48	14	29
5	4	3	2	—	—	30	6	—	—	—	—	67	18	27
1	—	1	—	—	—	7	2	—	—	—	—	32	9	28
1	—	—	—	—	—	6	1	2	—	—	—	79	5	6
5	3	1	—	—	—	24	7	2	—	—	—	86	23	27
2	—	—	—	—	—	13	1	—	—	—	—	34	6	18
6	—	4	—	—	—	6	—	—	—	—	—	60	8	13
10	3	—	—	—	—	31	7	2	—	53	12	174	41	23
2	—	—	—	—	—	16	6	17	3	—	—	87	15	17
25	13	48	13	66	25	—	—	1	—	—	—	200	66	33
3	2	2	—	—	—	9	4	1	—	—	—	62	12	19
6	1	3	1	—	—	5	—	5	—	—	—	38	8	21
31	12	—	—	—	—	6	1	—	—	—	—	45	14	31
3	1	1	—	—	—	36	6	6	1	—	—	143	27	19
2	2	1	1	—	—	—	—	13	1	—	—	50	9	18
—	—	—	—	—	—	42	4	4	2	—	—	51	6	12

wohner haben es ungesund gemacht, die Menschen haben mit ihrem Unrat und mit ihren schlechten Zisternen die Sümpfe geschaffen.

Darum heißt in Jerusalem ein Kampf gegen die Malaria — im Gegensatz zu den gewöhnlichen Sanierungen — nur dem Ort seine guten natürlichen Bedingungen wiedergeben. Ein Kampf gegen die Sümpfe, die schlechten Zisternen.

Vergegenwärtigt man sich die verschiedenen Methoden, die einem bei der Bekämpfung der Malaria zur Verfügung stehen, so zerfallen sie in:

1. Die Vertilgung der Überträger der Malaria, der Anophelesmücken. (Drainage, Petrolisierung, Ausräucherungen, Mückenbrigaden.)

2. Kampf gegen die Krankheit im Menschen durch kontrollierte Behandlung der Parasitenträger, durch planmäßig durchgeführte Chininprophylaxe.

Beide Methoden sind bereits mit Erfolg durchgeführt worden. Um einige anzuführen, sehen wir die Vertilgung der Anopheles mit großartigem Erfolge bei den Sanierungen von Port Said und Ismaila durch Ross angewandt. Und nicht minder gut sind die Erfolge Cellis in der römischen Campagne mit seiner Chininprophylaxe.

Welche Methode käme für Jerusalem in Betracht? Hierzu muß man vorher noch einen Blick auf die rechtlichen Verhältnisse der Stadt werfen. Jerusalem ist für die jüdische, christliche und mohammedanische Religion ein heiliger Ort. Alle Religionen — und für die christliche alle Mächte — sind bestrebt durch Erwerbung heiliger Stätten, Errichtung religiöser und Wohlfahrtsanstalten dem religiösen Bedürfnis ihrer Bürger Rechnung zu tragen. Bei den Kapitulationen der Mächte mit der Türkei bedeutet die Erwerbung eines Grundstückes in Jerusalem eine Exterritorialisierung des Terrains. Die Türkei verliert ihre Hoheitsrechte, die türkischen Beamten dürfen rechtlich nur mit Erlaubnis des betreffenden Konsuls das Grundstück und die auf ihm errichteten Gebäude betreten.

Weiter ziehen die meisten Einwohner bei den wenig geklärten rechtlichen Verhältnissen in der Türkei es vor, die fremde Staatsangehörigkeit zu behalten, obwohl sie seit langen Jahren in Jerusalem wohnen und sich bereits vollkommen an Land und Leute assimiliert haben.

Demzufolge wird das Interesse, das die türkischen Behörden für unsere Arbeit zeigen, von wenig nachhaltiger Wirkung bleiben müssen, wofern nicht auch die Vertreter der Mächte bei der Sanierung Hand in Hand arbeiten. Diese ideale Harmonie wird sich, wo so häufig religiöse Beschränktheit störend sich dazwischen drängt, schwer erreichen lassen und darum wird keine Sanierungsmethode von Erfolg sein, die den dauernden Druck der Behörden nötig hat, oder die für die Bevölkerung größere Unannehmlichkeiten mit sich bringt.

Deshalb ist die Chininprophylaxe keine für die ganze Stadt anzuwendende Methode, abgesehen davon, daß sie zu kostspielig und umständlich ist.

Für eine erfolgreiche Bekämpfung der Krankheit in der ganzen Stadt scheint uns der zweite Weg gangbar.

Vertilgung der Anopheles. Diese zerfällt:

a) in Vernichtung der lebenden Mücken,

b) in Beseitigung der Brutplätze.

ad a) die Mücken, die in Wohnungen, Kellern, Ställen und Zisternen überwintern, werden hier und da bei verständigen Leuten durch Ausräucherung oder Ausspritzung der betreffenden Räume zu vertilgen sein. Allgemein durchzuführen bei den Wohnungen in der Altstadt z. B. nur mit ungeheuren Kosten.

ad b) Wie kann man das Brutgeschäft der Mücken stören? Anderwärts pflegt man vorzugehen, indem man die in Betracht kommenden Sümpfe und Tümpel trocken legt oder mit Petroleum, Saprol oder anderen

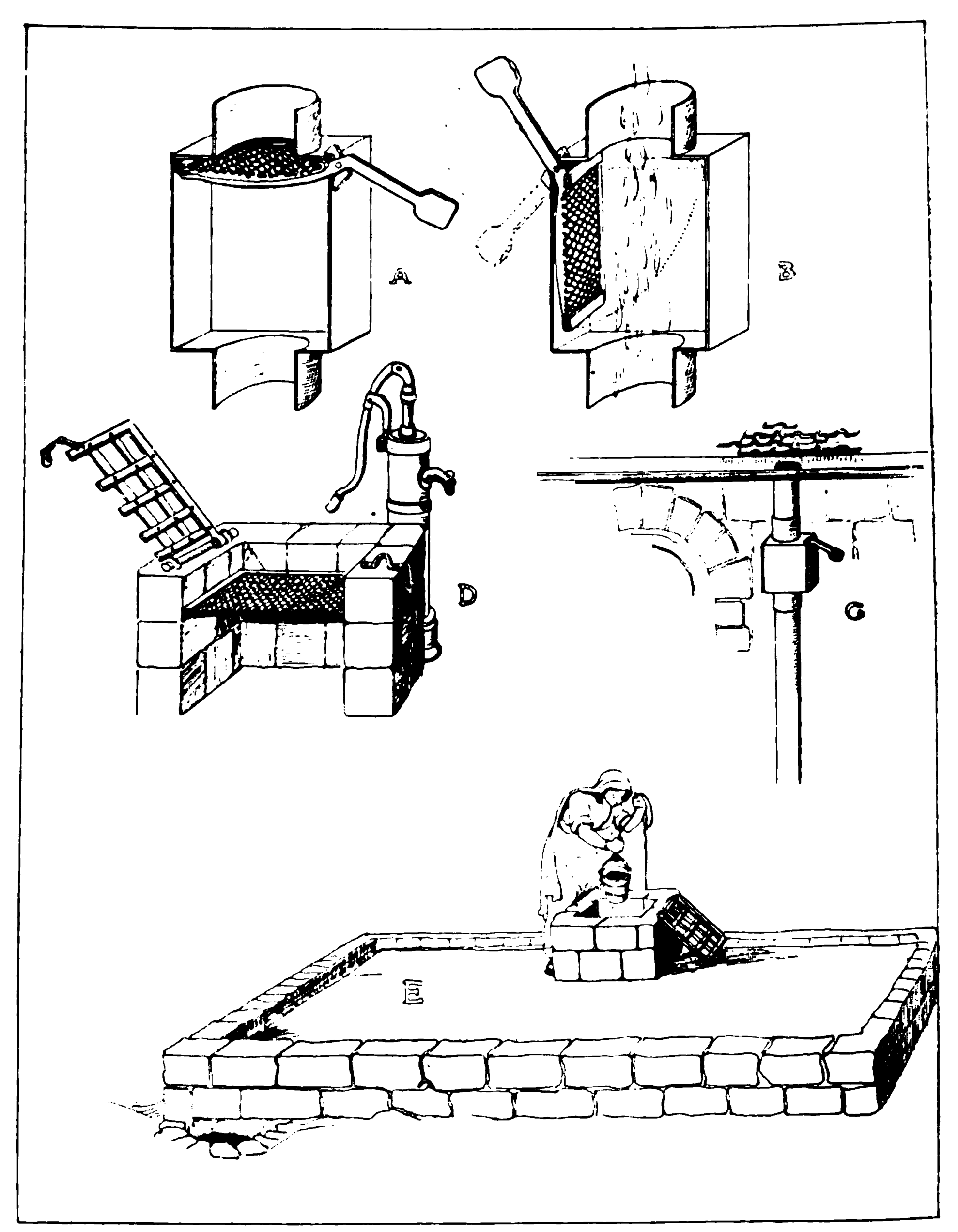


Flüssigkeiten übergießt. Beides ist bei den hiesigen Zisternen, den Wasserquellen der Bevölkerung, nicht angängig. Weder kann man sie schließen, noch eine Flüssigkeit zur Vernichtung der Larven hineingießen; denn eine solche, die nicht gleichzeitig den Gebrauchswert oder den Geschmack des Wassers beeinträchtigt, ist bisher nicht bekannt. Darum entschieden wir uns bereits im Oktober 1912 — in einem Bericht an die türkische Regierung — für die mechanische Abdichtung der Zisternen, eine Mückenbekämpfung die auch vom hygienischen Standpunkte aus am meisten zu bevorzugen ist. Die Abdichtung wollen wir auf folgende Weise vornehmen: Jede Zisterne erhält eine Pumpe; die Schöpföffnung wird dicht verschlossen; die Regenrohre werden ins Innere der Zisterne hineingeleitet und in der Wand der Zisternen ringsum abgedichtet. Alle sonstigen unnötigen Löcher werden vermauert.

Nun gab es noch eine Fehlerquelle zu beseitigen. Da die Dächer meist nicht hoch sind, und die Rohre unter dem Dach sich zu einem offenen kleinen Bassin erweitern, so hätten die Mücken durch die Rohre eindringen können. Um das Passieren der Mücken zu verhindern, haben wir einen Apparat konstruiert, der in das Regenrohr eingeschaltet wird (s. Fig. *A*). Durch eine Klappe, die sich oben im Apparat befindet, wird das Rohr verschlossen. Die Klappe ist beweglich, wird für gewöhnlich durch ein außen angebrachtes Gewicht hochgedrückt, so daß das Rohr verschlossen ist (s. Fig. *B*). Regnet es, so genügt der Druck des Regenwassers, um die Klappe hinunterzudrücken, so daß das Wasser in die Zisterne frei einfließen kann. Hört aber der Druck des fließenden Regenwassers auf, so wird die Klappe durch das Gewicht hochgedrückt und verschließt das Rohr hermetisch.

Nun war noch eine Forderung zu erfüllen: daß das Wasser in der Zisterne mit der Außenluft kommunizieren kann, da das Wasser viele organische Bestandteile enthält, die sich zersetzen könnten. Die Frage haben wir folgendermaßen gelöst: Bei den Zisternen, die ein besonderes Luftloch besitzen, haben wir etwa 10 cm unterhalb der Oberfläche einen dicht an die Wandung schließenden Rahmen eingesetzt, der mit einem feinen Drahtnetz beschlagen ist; und oben zum Schutz des Drahtnetzes die Öffnung mit (s. Fig. *D*) einem festen Drahtgitter verschlossen. Bei den anderen Zisternen benutzten wir die Regenrohre, um der Zisterne auch Luft zuzuführen. Aus diesem Grunde haben wir (s. Fig. *C*) den Körper der Verschlußklappe aus verzinktem Drahtnetz hergestellt, das durch 2 auf der Unterseite angebrachte Querleisten noch besonders widerstandsfähig gemacht ist. Die Apparate werden während der Regenzeit (Oktober bis März) alle 4 Wochen kontrolliert. Sie sind in Reichhöhe angebracht und können leicht herausgenommen und gereinigt werden.

Mit dem Kampf gegen die Anopheles werden auch die anderen Mücken vertilgt werden. Abgesehen davon, daß dadurch die Bevölkerung von einer



Figg. *A, B, C, D, E.*

durchaus lästigen Plage befreit würde, neigt die Wissenschaft neuerdings dazu, auch in den anderen Mücken Überträger von Krankheiten zu sehen, z. B. in der Culex die Verbreiterin des Denguefiebers.

Ferner wird die Instandhaltung der Zisternen noch andere Krankheiten günstig beeinflussen. Wir sahen eingangs, was alles in die Zisternen hineingespült wird. Wir glauben, daß durch die hygienische Einrichtung der Zisternen viele Magen- und Darmerkrankungen, viele Fälle von Typhus, Dysenterie werden vermieden werden können.

Die Schmutzwasserzisternen werden petrolisiert. Was die großen Wasserreservoire innerhalb der Stadt angeht, so muß Birket es Sultan, das schmutziges Wasser hält, durch einen ausreichenden Abfluß überhaupt beseitigt werden. Birket Hamman und Birket Mammilla müssen überwacht und, wenn es sich notwendig erweisen sollte, petrolisiert werden. Die Bethesdateiche müssen abgedichtet werden. Die sich in der Regenzeit bildenden Pfützen und Tümpel müssen am besten beseitigt, zumindest petrolisiert werden.

Wir haben begonnen bei 200 Häusern die Zisternen, wie oben beschrieben, instand zu setzen. Die Stadt hat uns in entgegenkommender Weise ihre polizeiliche und administrative Gewalt zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um die Viertel Nahlath Zion, 33 Prozent Infizierte, und Sichron Mosché, 19 Prozent Infizierte.

Selbstverständlich werden wir uns, wo es angezeigt ist, auch der anderen Malariabekämpfungsmittel bedienen. So werden wir in vielen geschlossenen Anstalten eine kontrollierte Chininprophylaxe durchführen.

Wir hoffen, wenn die ersten Versuche gut ausfallen, die Malariabekämpfung in größerem Stile aufnehmen zu können, zumal Hr. Nathan Straus neuerdings größere Mittel zur Verfügung gestellt hat. Das ideale Sanierungsmittel für Jerusalem wäre natürlich Wasserleitung und Kanalisation. Doch diese stehen noch in so weitem Felde, daß man zu anderen Mitteln zu greifen genötigt ist. Außerdem würde die Bevölkerung, selbst bei Einführung der Wasserleitung auf das Zisternenwasser nicht verzichten, so daß die Arbeit an den Zisternen in jedem Falle gerechtfertigt ist.

Zusammenfassung.

1. Unter fünf Bewohnern Jerusalems findet man bei dreien eine Vergrößerung der Milz.

2. Jeder fünfte hat Malariaparasiten im Blut (Untersuchungen vom 20. VIII. 12 bis 15. I. 13).

3. Ursache der Malaria ist der fehlerhafte Zustand der Zisternen.

4. Allgemeine Bekämpfung der Malaria heißt Abdichtung der Zisternen. (Im einzelnen sind je nach den Umständen alle Malariabekämpfungsmethoden anzuwenden.)

5. Zur eventuellen Sanierung wäre ein Zusammenschluß aller Kräfte notwendig, ohne partikularistische religiöse noch nationale Bestrebungen.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Prof. Dr. Flügge.)

Die Verwendung von Calciumkarbid zur Bestimmung der Mörtelfeuchtigkeit.

Von

Dr. med. **A. Korff-Petersen,**
Assistenten am Institut.

Über die Bedeutung, die einer zuverlässigen Untersuchungsmethode zur Feststellung der Mörtelfeuchtigkeit bewohnter Gebäude sowohl vom hygienischen als auch gerichtsärztlichen Standpunkt zukommt, dürfte ein Zweifel kaum bestehen. Besonders die gerichtsärztliche Begutachtung von Wohnungen nimmt in letzter Zeit ständig zu, und zwar ist gerade ein großer Teil dieser Gutachten wegen angeblich übergroßer Feuchtigkeit der Wohnungen zu erstatten.[1] Nun werden in der Literatur öfters Klagen laut, daß häufig solche Gutachten abgegeben werden, ohne daß eine objektive Untersuchung der Mauerfeuchtigkeit vorgenommen ist, und doch können selbst einigermaßen Geübte bei der bloßen Schätzung der Feuchtigkeit außerordentlich große Irrtümer begehen, wofür Emmerich[2] ein treffendes Beispiel anführt.

Für diese bedauerlichen Unterlassungen ist wohl kaum der Mangel an zuverlässigen Untersuchungsmethoden anzuschuldigen; verfügen wir doch über eine ganze Reihe von Methoden, die hinsichtlich ihrer Genauigkeit durchaus befriedigend sind. Die Gründe, daß trotzdem diese Methoden so wenig angewendet werden, müssen vielmehr in anderen Umständen zu suchen sein.

[1] Bürger, Gerichtsärztliche Begutachtung von Wohnungen. *Zeitschrift für Medizinalbeamte.* 1910.

[2] *Archiv f. Hygiene.* Bd. XIV.



Die Methoden zur exakten Bestimmung des Wassergehaltes der Wände zerfallen in zwei Gruppen. Die erste sucht das von den Wänden an die Luft abgegebene Wasser durch hygrometrische Messungen festzustellen, während die zweite Gruppe darauf ausgeht, die Substanz der Mauer direkt zu untersuchen. Die erste Art ist fast völlig verlassen, da sie zu unsichere Werte gibt, oder zu umständlich ist. Freilich ist eine Methode dieser Art von Sonden[1] vor längerer Zeit wieder empfohlen worden, weil die Feuchtigkeit in den Wänden eines Raumes ungleich verteilt sei, und daher Schwierigkeiten beständen, durch unmittelbare chemische Analyse die Feuchtigkeit festzustellen. Die von ihm beschriebene Methode ist aber so umständlich, daß sie für die Praxis gänzlich unbrauchbar ist. Andererseits lassen sich die durch die ungleichmäßige Verteilung der Feuchtigkeit bedingten Schwierigkeiten durch richtige Auswahl der Entnahmestellen für den Mörtel verhältnismäßig leicht beseitigen. Die Sondensche Methode besteht darin, daß in der ausgeräumten Lokalität, aus der alle Quellen einer Wasserabgabe entfernt werden müssen, zunächst durch mehrfache Kohlensäurebestimmung die Ventilationsgröße festgestellt wird. Dann wird im Raume und draußen die Temperatur und Feuchtigkeit mit dem Psychrometer bestimmt. Nach Feststellung aller dieser Faktoren läßt sich dann die in der Zeiteinheit vom Mauerwerk an die Luft abgegebene Wassermenge berechnen. Schon das Mitführen der zu diesen Untersuchungen nötigen Apparate, nämlich einer Kohlensäurebombe, eines Pettersonschen Apparates, eines Psychrometers, eines elektrischen Ventilators, der noch dazu nicht überall anzuschließen ist, verbieten die Einführung dieser Methode in die Praxis. Dazu kommt noch die keineswegs einfache Berechnung, und schließlich ist die Entfernung aller Quellen der Wasserabgabe öfters nicht möglich. Jedenfalls fand ich in einem Zimmer, dessen Wände völlig trocken waren, doch einen höheren Wasserdampfdruck, als im Freien. Es ist das wohl so zu erklären, daß die Lufterneuerung in jenem Raume nicht nur durch die Außenluft erfolgte, sondern teilweise aus Räumen mit höherer absoluter Feuchtigkeit.

Wir müssen uns also an die Methoden halten, bei denen die Substanz der Mauer selbst untersucht wird.

Die erste Methode dieser Art wurde von Glässgen[2] angegeben und beruht darauf, daß an verschiedenen Stellen Mörtel vom Wandbewurf und aus den Fugen entnommen wird. Dieser wird in einer Liebigschen Trockenröhre im wasser- und kohlensäurefreien Luftstrome getrocknet und der Gewichtsverlust festgestellt. Diese Methode ist von Lehmann und

[1] *Hygienische Rundschau.* 1894. Bd. IV. S. 600.

[2] *Zeitschrift f. Biologie.* Bd. X.



Nußbaum[1] abgeändert und in eine bequemer zu handhabende Form gebracht worden. Schließlich hat Emmerich[2] vorgeschlagen, eine größere Menge (etwa 120 bis 200^{grm}) des Gesamtmörtels nicht im wasser- und kohlensäurefreien Luftstrome, sondern in einem Vakuumapparate zu trocknen, da bei der Methode von Lehmann-Nußbaum wegen der notwendigen Trennung von Feinmörtel und Steinen ein nicht unerheblicher Wasserverlust stattfinde. Ich glaube nicht, daß dieser Einwand praktisch von großer Bedeutung ist; denn ein so anhaltendes Sieben, wie es Emmerich bei seinen diesbezüglichen Versuchen vorgenommen hat, wird in der Regel kaum notwendig sein. Es mag aber zugegeben werden, daß in einzelnen Fällen die Emmerichsche Methode vor der Lehmann-Nußbaumschen den Vorzug verdient.

Diese bisher aufgeführten gewichtsanalytischen Untersuchungsarten können als durchaus zuverlässig gelten;[3] doch haben sie alle den Nachteil, daß sie eine verhältnismäßig umfangreiche Apparatur beanspruchen. Bei der Glässgenschen bzw. Lehmann-Nußbaumschen Methode sind Einrichtungen zur Erzeugung eines Luftstromes, sowie Absorptionsapparate für die Kohlensäure und den Wasserdampf nötig, während die Emmerichsche einen Vakuumschrank erfordert, Einrichtungen, die dem Praktiker in der Regel nicht zur Verfügung stehen. Es ist daher nicht verwunderlich, daß diese Methoden in der Praxis keine große Verbreitung gefunden haben.

Um diesem Übelstande abzuhelfen, ist von Markl[4] eine wesentlich einfachere Methode zur Feuchtigkeitsbestimmung angegeben worden, die darin besteht, daß eine bestimmte Menge Mörtel mit hochgradigem Alkohol geschüttelt wird, wobei das Wasser des Mörtels vom Alkohol aufgenommen wird. Aus der Zunahme des spezifischen Gewichtes des Alkohols ist dann auf sehr einfache Weise der Wassergehalt zu berechnen. Markl selbst gibt für seine Methode gewisse Fehlerquellen zu. Aus dem Mörtel werden außer dem Wasser noch gewisse Mengen von Salzen vom Alkohol aufgenommen, die somit einen höheren Wassergehalt des Mörtels vortäuschen können; auch aus der Luft zieht der hochgradige Alkohol etwas Wasser an; dagegen wird nicht alles im Mörtel enthaltene Wasser ausgezogen, so daß sich — nach Markls Angaben — diese Fehler so weit gegenseitig

[1] *Archiv f. Hygiene.* Bd. IX.

[2] *Ebenda.* Bd. XIV.

[3] Ballner (*Ebenda.* Bd. XXXVII.) hat bei wiederholten Versuchen mit der Lehmann-Nußbaumschen Methode Abweichungen bis zu 0·3 Prozent gefunden. Ich habe so große Unterschiede nicht beobachten können.

[4] *Ebenda.* Bd. XXXIV.



aufheben, daß er niemals einen größeren Fehler als 0·5 Prozent beim Vergleich seiner Methode mit der gewichtsanalytischen fand.

Wenn ich auch, wie nachfolgende Tabelle zeigt, diese Angaben nicht für alle Fälle bestätigen konnte, so glaube ich doch, daß diese Methode hinsichtlich der Genauigkeit den von der Praxis zu stellenden Anforderungen genügt. Eine bedeutendere Abweichung findet sich nur bei sehr feuchtem Mörtel, wo offenbar eine beträchtliche Auflösung von Salzen stattgefunden hat. Da aber der Wassergehalt des Mörtels nach allgemeiner Annahme höchstens 2 Prozent beträgt, wenn eine Wohnung als bewohnbar anzusehen ist, so werden derartige Fälle in der Praxis nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Mörtel	Gewichtsanalyt.	Nach Markl
1	0.37 Proz.	0·0 Proz.
2	1·25 „	1·50 „
3	2·95 „	2·0 „
4	0.7 „	0·5 „
5	1·1 „	1·0 „
6	4·4 „	6·0 „
7	4·2 „	4·4 „
8	1.2 „	1·48 „
9	2·9 „	3·5 „
10	1·3 „	1·9 „

Jedenfalls verdient die Marklsche Methode vor der bloßen Schätzung des Feuchtigkeitsgehaltes bei weitem den Vorzug. Wenn sich trotzdem diese Methode in der Praxis nur einer geringen Beliebtheit erfreut und nur wenig Eingang gefunden hat, so liegt meiner Meinung nach der Grund darin, daß sie durchaus nicht so einfach ist, wie Markl annimmt.

Wenn die Methode zuverlässig arbeiten soll, so erfordert sie einen erheblichen Aufwand an Zeit und Aufmerksamkeit. Besonders bietet das Innehalten der richtigen Temperatur eine bedeutende Schwierigkeit. Bei der Wasseraufnahme erwärmt sich der Alkohol ziemlich stark. Es wird also nötig, ihn abzukühlen. Hierbei verpaßt man aber sehr leicht den richtigen Zeitpunkt des Ablesens, so daß öfters ein mehrmaliges Abkühlen und Wiedererwärmen nötig wird. Ein Irrtum in der richtigen Temperatur kann aber — worauf Markl selbst hinweist — zu großen Fehlern führen. Dann erfordert die Methode auch besonders feine Aräometer; und ein äußerst genaues Ablesen derselben ist unbedingtes Erfordernis. Schließlich erfordert die Feststellung des Ergebnisses eine Berechnung. Nun ist diese zwar sehr einfach; aber nach Äußerungen von Praktikern glaube

ich doch annehmen zu müssen, daß auch dies zu einer gewissen Abneigung gegen die Methode geführt hat.

Um diesen Schwierigkeiten abzuhelfen, schlug Ballner[1] vor, gewogene Mörtelmengen in einen kleinen Exsikkator zusammen mit Phosphorsäureanhydrid zu stellen und den Gewichtsverlust nach 24 bzw. 48 Stunden festzustellen. Er fand diese Methode durchaus zuverlässig, doch ist nach seiner Meinung im allgemeinen 0·2 Prozent Wasser dem gefundenen hinzuzurechnen, da Phosphorsäureanhydrid nicht alles Wasser entzieht. Auch diese Methode habe ich in einigen Fällen nachgeprüft und dabei folgende Resultate erhalten:

Mörtel Nr.	Lehmann-Nußbaum	Ballner 24 Stunden	Ballner 48 Stunden
1	1·1 Proz.	0·7 Proz.	0·7 Proz.
2	4·4 „	4·3 „	4·3 „
3	4·2 „	3·9 „	4·2 „
4	1·2 „	1·0 „	1·0 „
5	2·5 „	1·8 „	1·8 „

Hieraus ist ersichtlich, daß auch sie für die Praxis hinreichend genaue Resultate liefert. Ihrer allgemeinen Einführung dürfte aber der Umstand hindernd im Wege stehen, daß sich das Ergebnis der Untersuchung erst nach so langer Zeit feststellen läßt. Dieser Mangel wird sich besonders bei Bauabnahmen, wo die Entscheidung bald zu treffen ist, fühlbar machen.

Aus Äußerungen von Praktikern, Kreisärzten usw. habe ich geschlossen, daß für die Mörteluntersuchungen ein Verfahren erwünscht sei, bei dem man ohne große Rechnung mit genügender Genauigkeit in kurzer Zeit den Wassergehalt in Prozenten ohne weiteres ablesen kann.

Am aussichtsreichsten in dieser Hinsicht schien mir die Verwendung von Calciumkarbid zu sein. Diese Substanz ist zuerst von H. A. Danne[2] zur Bestimmung der Feuchtigkeit in organischen Pulvern benutzt worden. Er wog das zu untersuchende Pulver in ein Probierrohr ein, überschichtete es mit Sand, auf dem wiederum eine Schicht Calciumkarbid kam. Beim Erhitzen des Rohres destilliert die Feuchtigkeit durch den Sand und reagiert mit dem Calciumkarbid nach der Formel:

$$CaC_2 + 2H_2O = Ca(OH)_2 + C_2H_2.$$

Das hierbei freiwerdende Azetylen wird aufgefangen, und aus seinem Volum die Feuchtigkeit berechnet.

[1] *Archiv f. Hygiene.* Bd. XXXVII.

[2] Vgl. *Zeitschrift f. analyt. Chemie.* 1911. S. 765, hier auch weitere Literaturangaben.

Eine ähnliche Methode hat P. V. Dupré vorgeschlagen. Eine vereinfachte Methode, nach der in Australien die Feuchtigkeit in Schafwolle bestimmt wird, hat Orme Masson beschrieben. Hierbei wird die auf Feuchtigkeit zu prüfende Substanz mit einem großen Überschuß von gepulvertem Karbid gemischt, während im übrigen wie bei der vorherigen Methode verfahren wird.

Diese letzte Methode habe ich auf die Brauchbarkeit für die Bestimmung des freien Wassers im Mörtel geprüft, indem ich das Azetylen über gesättigter Salzlösung in einem Eudiometer auffing. Ich erhielt durchaus zufriedenstellende Resultate; habe die Methode jedoch verlassen, da die Berechnung zu umständlich ist, so daß sie für eine Einführung in die Praxis wenig Aussicht bot. Dagegen erwies sich die Messung des Druckes, der vom freiwerdenden Azetylen ausgeübt wird, als sehr brauchbar, um den Wassergehalt des Mörtels direkt in Prozent anzugeben. Es ist nur nötig, ein Manometer in geeigneter Weise mit einem Gefäße für die Entwicklung des Gases zu verbinden und statt nach Atmosphären empirisch nach Prozent des Wassergehaltes zu eichen.



Nach diesen Grundsätzen ist der nebenstehend abgebildete Apparat auf meine Anregung von der Firma F. und M. Lautenschläger, Berlin, konstruiert.

A ist eine starkwandige Glasflasche, auf welche mittels einer nach Art der Patentverschlüsse an Mineralwasserflaschen wirkenden Einrichtung das durch den Gummistopfen *C* hindurchgesteckte Manometer *B* fest aufgesetzt werden kann. Das Manometer *B* ist für Drucke von 0 bis 1 Atmosphäre eingerichtet und trägt ein Zifferblatt, welches die Ablesung von Zehntelprozent Wassergehalt gestattet.

Zum Zwecke der Wasserbestimmung wird der in einer Reibschale zerriebene Mörtel auf einer Tarierwage oder guten Briefwage abgewogen und in die Flasche *A* gebracht. Dazu gibt man das gepulverte Calciumkarbid, das in einer dünnwandigen Röhre *D* eingeschmolzen ist.

Nunmehr wird das Manometer aufgesetzt, und der Verschluß geschlossen. Dann wird durch kräftiges Schütteln das Röhrchen *D* zer-



brochen, und sein Inhalt mit dem Mörtel gemischt. Wenn der Zeiger des Manometers trotz weiteren Schüttelns nicht mehr steigt, läßt man den Apparat einige Minuten lang ruhig stehen, damit die Temperatur, die bei dem chemischen Prozeß etwas erhöht ist, sich wieder ausgleicht. Da die Eichung des Apparates bei 17° C vorgenommen ist, müßte streng genommen die Ablesung auch immer bei dieser Temperatur erfolgen. Es hat sich aber gezeigt, daß eine Temperaturdifferenz von einigen Graden praktisch ohne Einfluß auf die Genauigkeit der Ablesung ist. Weicht allerdings die Lufttemperatur erheblich von 17° ab, so ist es zweckmäßig, den Apparat in ein Gefäß mit Wasser von dieser Temperatur einzutauchen, und erst nach einigem Zuwarten abzulesen.

Das im Mörtel als Hydratwasser gebundene Wasser reagiert nicht mit dem Calciumkarbid; es wird also nur das freie Wasser bestimmt.

Bei dem zuerst von mir verwendeten Apparate hatte die Gasentwicklungsflasche etwa 280 ccm Inhalt, das Zifferblatt trug eine innere Skala, die nur in Viertelprozent eingeteilt war, und eine äußere, welche die Ablesung von Zehntelprozent gestattete. Ich verwendete zunächst immer nur 5 grm Mörtel, wobei die Ablesung auf der inneren Skala erfolgte. Ergab sich ein Wassergehalt, der 2 Prozent erheblich überstieg, so begnügte ich mich mit dieser Bestimmung. Bei geringem Wassergehalte dagegen wurde eine zweite Bestimmung mit 15 grm gemacht. In diesem Falle erfolgte die Ablesung an der äußeren Skala. Da jetzt die Ausschläge weit größer wurden, war diese Bestimmung genauer. Die Vorprobe unter Verwendung von nur 5 grm Mörtel wurde gemacht, weil bei sehr feuchtem Mörtel und Verwendung von 15 grm der Druck unter Umständen so groß werden kann, daß das Manometer beschädigt wird.

Nach dem geschilderten Verfahren habe ich Mörtelproben der verschiedensten Herkunft geprüft und nachstehende Ergebnisse erhalten:

1. Bei Verwendung von 15 grm Mörtel:

Bezeichnung der Probe	CaC_2-Methode in Prozenten	Gewichtsanalyt. in Prozenten
1. Zusammengemischte Probe	1·25	1·27
2. „ „	1·80	1·64
3. „ „	0·65	0·67
4. „ „	1·60	1·50
5. „ „	1·30	1·60
6. „ „	1·10	1·20
7. Hygienisches Institut, Keller . . .	0·40	0·30
8. „ „ Tierstall . . .	0·35	0·25
9. Haus Marchstr.	0·35	0·27

Bezeichnung der Probe	CaC_2-Methode in Prozent	Gewichtsanalyt. in Prozent
10. Neubau	0·41	0·50
11. Haus Oranienstr..	0·50	0·87
12. Laden Brandenburgerstr.	1·70	2·00
13. Hausflur „	2·00	2·20
14. Vinetastr. Hochparterre	0·70	0·90
15. Mörtel mit 3 Proz. Chlorcalcium versetzt	2.55	2·86
2. Bei Verwendung von 5 grm Mörtel:		
16. Gemischte Probe	2·00	2·30
17. Haus in der Liegnitzerstr.	3·80	4·50
18. Fabrik in der Herthastr.	4·90	5·60

Diese Versuchsergebnisse zeigen, daß die Calciumkarbidmethode hinsichtlich ihrer Genauigkeit, bei Verwendung von 15 grm Mörtel, die Methoden von Markl und Ballner übertrifft.

Ein gewisser Nachteil bestand aber darin, daß zuweilen zwei Bestimmungen nötig waren. Da nun eine Bestimmung nur etwa 5 Minuten erfordert, und eine Reinigung des Apparates nach dem Gebrauch nicht nötig ist, sondern bloßes Ausschütten des verbrauchten Mörtels genügt, war der Nachteil allerdings nicht groß. Trotzdem habe ich später einen Apparat benutzt, bei dem die Gasentwicklungsflasche etwa 500 ccm Inhalt hatte. Nunmehr konnten jedesmal gleich 15 grm Mörtel zur Wasserbestimmung verwendet werden, da der Druck entsprechend geringer wurde. Erst bei mehr als 9 Prozent Wassergehalt reicht dieser Apparat nicht mehr aus. Ein Vergleich der so gewonnenen Werte mit denen durch Gewichtsanalyse gefundenen ergab:

Mörtel Nr.	CaC_2-Methode	Gewichtsanalytisch
1.	6·2 Proz.	5·8 Proz.
2.	2·9 „	2·5 „
3.	0·8 „	1·0 „
4.	4·0 „	4·0 „
5.	1·9 „	2·0 „

Auch bei diesem Apparat, bei dem eine Vorprobe nicht mehr nötig ist, entspricht also die Genauigkeit durchaus allen Anforderungen, die an eine solche für die Praxis bestimmte Methode gestellt werden dürfen. Auch wenn dem Mörtel größere Mengen Chlorcalcium zugesetzt waren, blieb die Genauigkeit eine hinreichend gute. Nur bei Zusatz von sehr großen Mengen dieser, das Wasser besonders fest bindenden Substanz wurden die Ausschläge ungenau. Im Hausmörtel werden aber wohl kaum jemals größere Mengen dieses Stoffes anzutreffen sein.



Hinsichtlich der leichten Ausführbarkeit wird die Calciumkarbidmethode von keiner der anderen erreicht. Der Preis des Apparates beträgt etwa 26 Mark.

Wichtig für eine richtige Beurteilung des Feuchtigkeitsgrades der Wohnung ist die zweckmäßige Auswahl der Entnahmestellen für den zu untersuchenden Mörtel. Man wird die Proben an mehreren Stellen (etwa 4 bis 5) entnehmen und sich hierbei von besonderen Anzeichen leiten lassen. Zunächst sind die Außenmauern und besonders die der Wetterseite zugekehrte zu untersuchen. Dunklere Flecke, Schimmelbildung, Mauersalpeter, Vorwölbung der Tapeten können die auszuwählenden Stellen anzeigen. Ganz zweckmäßig ist auch die von v. Esmarch vorgeschlagene Anheftung von Gelatinefolie, die sich an feuchten Stellen krümmt.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]
(Vorstand: Professor Bail.)

Über die Wirkungsweise des Streptokokkenimmunserums.

Von

Edmund Weil.

Infolge des großen praktischen und theoretischen Interesses war die Streptokokkenimmunität schon seit langem der Gegenstand eines eingehenden Studiums. Die Anregung hierzu gaben die bekannten Versuche von Denys und Leclef, durch welche erwiesen wurde, daß das Blutserum von künstlich gegen Streptokokken immunisierten Tieren die Fähigkeit besitzt, die Bakterien derart zu beeinflussen, daß sie leicht der Phagozytose anheimfallen. In neuerer Zeit haben dann Neufeld und seine Mitarbeiter diese älteren Versuche wieder aufgenommen und bestätigt. Auch sie schreiben den phagozytosebefördernden Stoffen, welche sie Bakteriotropine nennen, die Hauptrolle bei der Immunität gegen Streptokokken zu, zumal das Immunserum bakterizide Eigenschaften nicht besitzt. Obzwar es sehr wahrscheinlich ist, daß das Streptokokkenimmunserum den Bakteriotropinen seinen Schutzwert verdankt, so ist dies trotzdem auf Grund der bisherigen Versuche noch nicht vollkommen sichergestellt. Es müßte zunächst der Nachweis erbracht werden, daß die Leukozyten erst durch das spezifische Immunserum die Fähigkeit erlangen, die Streptokokken abzutöten, da ja der bloße Nachweis der gesteigerten Phagozytose noch nicht genügt, um diese für die Immunität verantwortlich zu machen; denn wir wissen, daß einerseits trotz Vorhandenseins der reichlichsten Phagozytose hohe Empfindlichkeit bestehen kann, anderseits aber die Leukozyten bei fehlender Phagozytose die stärkste Bakterizidie entfalten können,

da viele Bakterien den Leukozyten die bakteriziden Stoffe entziehen. So wünschenswert es erscheint, Immunitätsfragen durch direkte Beobachtung im Tierkörper zu entscheiden, so sind daselbst die Verhältnisse oft so kompliziert, daß man zu einem sicheren Schluß nicht gelangen kann. Im Reagensglas hingegen, wo wir die Versuchsanordnung willkürlich beeinflussen, einfach und übersichtlich gestalten können, wird es unter Umständen sehr wohl möglich sein, einen Rückschluß auf die Vorgänge im Organismus zu ziehen. Insbesondere ist dies, wie wir zeigen konnten, bei Versuchen mit Leukozyten der Fall, da wir infolge einer geeigneten Technik, über die wir jetzt verfügen, meist einwandfreie und sichere Resultate erzielen. In der Tat ist es auch Bail und Kleinhans gelungen, den Nachweis zu erbringen, daß Meerschweinchenleukozyten, welche virulente Streptokokken nicht abtöten, durch Zusatz von Immunserum bakterizide Fähigkeiten erlangen. Es war die Entscheidung zu treffen, ob das Immunserum durch seine opsonischen Eigenschaften oder durch einen bakteriziden Anteil die Bakterizidie der Leukozyten bedingt. Daß ersteres der Fall war, konnte dadurch bewiesen werden, daß Gefrierextrakte aus Leukozyten auch ohne Immunserum bakterizid wirkten. Damit war sichergestellt, daß die Leukozyten die gegen die Streptokokken wirkenden bakteriziden Stoffe besitzen, und daß das Immunserum nur durch seine phagozytosefördernde Eigenschaft den Kontakt dieser mit den Bakterien bewerkstelligt. Es unterscheiden sich also manche Streptokokken von vielen anderen Bakterien dadurch, daß sie nicht die Fähigkeit besitzen, den lebenden Leukozyten die bakteriziden Stoffe zu entziehen, ein Umstand, der im Verein mit der Phagozytoseresistenz ihre Virulenz bedingt.

Haben nun die genannten Versuche von Bail und Kleinhans fast mit Sicherheit ergeben, daß das Streptokokkenimmunserum den Opsoninen seine Schutzwirkung verdankt, so wollten wir uns doch, bevor wir dieses Immunserum nach anderen Richtungen prüften, auch im Tierkörper von der Wirkung der Bakteriotropine überzeugen. Wir haben zu unseren Experimenten das käufliche Streptokokkenimmunserum Aronson und einen von Hrn. Dr. Aronson überlassenen Streptokokkenstamm, der eine sehr hohe Virulenz besaß, benutzt.

Beifolgender Versuch zeigt die Wirksamkeit des Immunserums auf den dazugehörigen Stamm.

Versuch I.

Maus 1 0·1 Immunser. subkutan + 0·01 Bouillonkultur subkutan. Lebt.
„ 2 0·01 „ „ + 0.01 „ „ „
„ 3 0·001 „ „ + 0·01 „ Stirbt nach 5 Tagen.
„ 4 (Kontrolle) 0·01 Kultur subkut. Stirbt nach 16 Stunden.



Wir ersehen daraus, daß das Immunserum sehr hochwertig ist, da es in der Menge von 0·001 ccm gegen eine subkutane Infektion mit der vielfach tödlichen Dosis noch deutlichen Schutz gewährt.

Wir prüften zunächst die Bindungskraft der Streptokokken für die Schutzstoffe des Immunserums, indem wir 1 ccm des unverdünnten Immunserums zweimal mit dem Inhalt je einer Kolleschen Schale bei 60° abgetöteter Streptokokken 1 Stunde bei 37° behandelten.

Versuch II.

Maus	5	0·1	I. S.	+ 0·01	K. subkut.	Lebt.
„	6	0·01	„	+ 0·01	„ „	„
„	7	0·001	„	+ 0·01	„ „	Stirbt nach 18 Stunden.
„	8	0·0001	„	+ 0·01	„ „	„ „ 18 „
„	9	0·1	beh. I. S.	+ 0·01	K. subk.	„ „ 18 „
„	10	0·01	„ „	+ 0·01	„ „	„ „ 18 „
„	11	0·001	„ „	+ 0·01	„ „	„ „ 18 „
„	12	0·0001	„ „	+ 0·01	„ „	„ „ 18 „
„	13	0·01 K. subkut.				Stirbt nach 18 Stunden.

Die Infektion wurde mit der 2. Passage vorgenommen.

Zeichenerklärung:

I. S. = Immunserum. beh. I. S. = mit Streptokokken behandeltes I. S.
K. = Bouillonkultur der Streptokokken.

Diesem Versuche entnimmt man, daß das Streptokokkenimmunserum durch Behandeln mit abgetöteten Streptokokken seiner Schutzkraft verlustig geworden ist. Es war zu prüfen, ob die Erschöpfung eine spezifische ist. Deshalb haben wir, wie der beifolgende Versuch zeigt, das Immunserum auf dieselbe Weise mit abgetöteten Choleravibrionen behandelt.

Versuch III.

Maus	14	0·1	I. S. subkutan	+ 0·01	K.	Lebt.
„	15	0·01	„ „	+ 0·01	„	„
„	16	0·001	„ „	+ 0·01	„	Stirbt nach 22 Stunden.
„	17	0·1	m. Chol. beh. I. S.	+ 0·01	K.	Lebt.
„	18	0·01	„ „ „ „	+ 0·01	„	„
„	19	0·001	„ „ „ „	+ 0·01	„	Stirbt nach 36 Stunden.
„	20	0·25	m. Strept. beh. I. S.	+ 0·01	„	„ „ 18 „
„	21	0·1	„ „ „ „	+ 0·01	„	„ „ 18 „
„	22	0·01	„ „ „ „	+ 0·01	„	„ „ 18 „
„	23	0·01 K. subkutan.				Stirbt nach 18 Stunden.

Die Infektion wurde mit der 3. Passage vorgenommen.

Da Choleravibrionen das Immunserum bis zur Titergrenze intakt lassen, so ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß die Erschöpfung mit Streptokokken eine spezifische ist.

Da es nach den Versuchen von **Pfeiffer** und **Moreschi**, die wir bestätigen konnten, gelingt, durch Injektion von komplementbindenden Mitteln bakterizide Immunsera im Tierkörper unwirksam zu machen, so war es von Interesse, die gleichen Versuche auch beim Streptokokkenimmunserum, welches sicher nicht durch Bakterizidie wirkt, anzustellen. Wir haben als komplementbindendes Mittel sensibilisierte Choleravibrionen benutzt, welche uns wegen ihrer stark bindenden Kraft einerseits, wegen geringer Giftigkeit für Mäuse andererseits am geeignetsten schienen. Da wir in unseren früheren Versuchen jene Tiere, bei welchen wir durch vorherige Bouilloninjektion eine Leukozytenansammlung in der Bauchhöhle erzielt hatten, trotz des komplementbindenden Systems geschützt sahen, so haben wir auch in unseren jetzigen Versuchen neben den unvorbehandelten auch mit Bouillon intraperitoneal behandelte Tiere voruntersucht.

Versuch IV.

Das komplementbindende System für jedes Tier bestand aus $^1/_{10}$ Agarkultur Cholera + 0·1 Choleraimmunserum.

Maus		Vorbehandlung	Injektion	Ergebnis
Maus	24	Mit Bouillon vorbehandelt intraperiton.	komplem. Syst. + 0·25 I.S. + 0·01 K. intraper.	Lebt.
„	25		„ „ + 0·1 „ + 0·01 „ „	St. n. 5 Tg.
„	26		„ „ + 0·02 „ + 0·01 „ „	„ „ 5 „
„	27	(Kontrolle)	„ „ + 0·01 K.	Stirbt nach 16 Stunden.
„	28		komplem. Syst. + 0·25 I. S. + 0·01 K. intraper.	Stirbt n. 13 Stdn.
„	29		„ „ + 0·1 „ + 0·01 „ „	„ „ 13 „
„	30		„ „ + 0·02 „ + 0·01 „ „	„ „ 13 „
„	31		0·25 I. S. + 0·01 K. intraperitoneal.	Lebt.
„	32		0·1 „ + 0·01 „ „	„
„	33		0·02 „ + 0·01 „ „	„
„	34	(Kontrolle)	+ 0·01 „	Stirbt nach 16 Stunden.
„	35		$^2/_{10}$ komplem. Syst. ohne Infektion.	Lebt.

Die Infektion wurde mit der 4. Passage vorgenommen.

Wir entnehmen diesem Versuche, daß sensibilisierte Choleravibrionen die vielfach schützende Dosis des Immunserums unwirksam machen. Auch sehen wir, daß die vorherige Ansammlung von Leukozyten die Resistenz der Tiere bedeutend erhöht (M. 24, 25, 26). Die beiden nach 5 Tagen gestorbenen Mäuse hatten zwar kulturell Streptokokken, doch waren solche mikroskopisch nicht zu finden. Wir möchten bei der Gelegenheit darauf hinweisen, daß es notwendig ist, sämtliche gestorbenen Tiere zu sezieren und in zweifelhaften Fällen auch Kulturen anzulegen. Bei den unbehandelten Kontrolltieren oder bei den schutzlos erlegenen Mäusen findet man sowohl in der Bauchhöhle als auch im Herzblute mikroskopisch massenhaft Streptokokken. Auch sterben diese Tiere immer innerhalb 24 Stunden. Bei jenen Tieren jedoch, welche nach längerer Zeit sterben, und bei welchen



Streptokokken nur kulturell nachweisbar sind, hat das Serum, wenn auch unvollkommen, so doch schützend gewirkt. Es kommt auch vor, daß Mäuse innerhalb einer Woche mit vollkommen sterilem Befund sterben. In diesen Fällen muß man an Vergiftung denken. Wir haben unsere sämtlichen Tiere nur eine Woche beobachtet, da nach dieser Zeit eine Anzahl von Mäusen ganz unregelmäßig, teils mit Streptokokken, teils steril stirbt. Man kann in diesen Fällen nicht von einem unvollkommenen Schutz des Immunserums sprechen, da dieses Schicksal öfters Tiere mit den höchsten Serumdosen trifft.

Wir haben in einem folgenden Versuche als komplementbindendes System Eiweißpräzipitat verwendet, welches wir aus Menschenserum-Antiserum hergestellt haben. Dieses wurde in der Menge von 0·5 ccm intraperitoneal injiziert und hatte in dieser Verdünnung die Trübung einer sehr dichten Bakterienemulsion. Es war von Interesse zu sehen, wie sich das Eiweißpräzipitat, welches als komplementabsorbierendes Mittel sehr wirksam ist, verhält.

Versuch V.

Maus	Vorbehandlung	Behandlung und Infektion	Ergebnis
Maus 36	Mit Bouillon intraper. vorbehandelt	Eiweißpräz. + 0·25 I.S. + 0·01 K. intraper.	Lebt.
„ 37		„ + 0·1 „ + 0·01 „ „	„
„ 38		„ + 0·02 „ + 0·01 „ „	„
„ 39		Eiweißpräzip. + 0·25 I.S. + 0·01 K. intrap.	Lebt.
„ 40		„ + 0·1 „ + 0·01 „ „	Stirbt n. 5 Tagen.
„ 41		„ + 0·02 „ + 0·01 „ „	„ „ 5 „
„ 42		0·25 I.S + 0·01 K. intraperitoneal.	Lebt.
„ 43		0·1 „ + 0·01 „ „	„
„ 44		0·01 „ + 0·01 „ „	„
„ 45		(Kontrolle) 0·01 K. intraperitoneal.	Stirbt nach 16 Stunden.
„ 46		Eiweißpräzipitat in doppelter Menge ohne Infektion.	Lebt.

Die Infektion wurde mit der 5. Passage vorgenommen.

Wir sehen an dem vorangehenden Versuch, daß das Eiweißpräzipitat den Choleravibrionen an Wirksamkeit bedeutend nachsteht, da die vorbehandelten Tiere überhaupt am Leben bleiben, und nur zwei der unbehandelten Mäuse nach 5 Tagen mit kulturell nachweisbaren Streptokokken sterben.

Es wurden noch zwei weitere Versuche angestellt, indem wir als komplementbindendes Mittel auch nicht sensibilisierte Vibrionen angewendet haben.

Versuch VI.

Das komplementbindende System bestand aus einer Cholerakultur, die in 2 ccm NaCl abgeschwemmt und pro Tier in der Menge von 0·2 ccm intraperitoneal injiziert wurde. 1 ccm der Kultur wurden 0·1 Chol. I.S. sensibilisiert.

Maus	Vorbehandlung	Behandlung	Ergebnis
Maus 47	Mit Bouillon vorbehandelt	kompl. Syst. + 0·25 I.S. + 0·002 K. i.p.[1]	Lebt.
„ 48		„ „ + 0·1 „ + 0·002 „ „	„
„ 49		„ „ + 0·25 „ + 0.002 „ „	St. n. 12 Std.
„ 50	(n. sensibilis.)	kompl. Syst. + 0·25 I.S. + 0·002 K. i.p.	St. n. 18 Std.
„ 51		„ „ + 0·1 „ + 0·002 „ „	„ „ 18 „
„ 52	(n. sensibilis.)	„ „ + 0·25 „ + 0·002 „ „	„ „ 18 „
„ 53		0·25 I.S. + 0·002 K. i.p.	Lebt.
„ 54		0·1 „ + 0·002 „ „	„
„ 55		0·002 K. i.p.	Stirbt nach 18 Stunden.
„ 56		Doppelt kompl. Syst. ohne Infektion.	Lebt.

Die Infektion wurde mit der 9. Passage vorgenommen.

Versuch VII.

Das komplementbindende System war wie im vorigen Versuche, nur bekam jedes Tier 0·1 ccm. Die Bakterien waren nicht sensibilisiert.

Maus	Vorbehandlung	Behandlung	Ergebnis
Maus 57	Mit Bouillon intraperit. vorbehandelt	kompl. Syst. + 0·05 I.S. + 0·01 K. i.p.	Lebt.
„ 58		„ „ + 0·025 „ + 0·01 „ „	„
„ 59		0·01 K. i.p.	Stirbt nach 18 Stunden.
„ 60		0·01 „ „	„ „ 4 Tagen typisch.
„ 61		kompl. Syst. + 0·2 I.S. + 0·01 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„ 62		„ „ + 0·1 „ + 0.01 „ „	„ „ 24 „
„ 63		0·05 I.S. + 0·01 K. i.p.	Lebt.
„ 64		0·025 „ + 0·01 „ „	St. n. 3 Tg. mikrosk. vereinzelte Strept.
„ 65		0·01 K. i.p.	Stirbt nach 18 Stunden.
„ 66		Doppelte Menge kompl. Syst. ohne Infektion.	Lebt.

Die Infektion wurde mit der 10. Passage vorgenommen.

Wir entnehmen diesen Versuchen, daß es leicht gelingt mit sensibilisierten oder nicht sensibilisierten Choleravibrionen die Schutzwirkung des Streptokokkenimmunserums aufzuheben. Wir müssen erwägen, welche Momente wir für diese paralisierende Fähigkeit der Vibrionen in Betracht ziehen sollen. An Giftwirkung oder Komplementbindung muß zunächst gedacht werden. Erstere hat aus dem Grunde sehr wenig Wahrscheinlichkeit, weil die in unseren Versuchen angewendeten Choleravibrionen so wenig giftig sind, daß selbst die doppelte Dosis nur eine sehr geringe, 1 bis 2 Stunden dauernde Gesundheitsstörung hervorruft. Betreffs des zweiten Punktes muß vor allem darauf hingewiesen werden, daß eine Komplementbindung für die Wirkung der Bakteriotropine belanglos sein müßte, da es ja durch die Versuche von Neufeld einwandfrei erwiesen ist, daß die Bakteriotropine des Komplementes nicht bedürfen. Es müssen also die Choleravibrionen noch eine andere Wirkung im Tierkörper ausüben. Wir konnten nämlich zeigen, daß Emulsionen der verschiedensten Bakterien in ungemein starkem Maße die

[1] i.p. = intraperitoneal.

bakteriziden Leukozytenstoffe adsorbieren, und zwar ist es ganz gleichgültig, ob die Leukozytenstoffe in Lösung sind (Extrakte), ob sie an den abgetöteten Leukozytentrümmern haften oder ob sie in den lebenden Leukozyten enthalten sind. Wenn also eine Bakterienemulsion mit Leukozyten in Kontakt tritt, so werden letztere vollkommen ihrer bakteriziden Stoffe beraubt und sind wirkungslos. Es ist daher die Frage zu erörtern, ob die Choleravibrionen nicht in dem eben erörterten Sinne wirken. Dadurch wäre zunächst verständlich, warum ein Unterschied zwischen sensibilisierten und nicht sensibilisierten Vibrionen nicht vorhanden ist, da doch erstere in bezug auf Komplementbindung viel stärker wirken. Auch weist die schwache Wirkung der Eiweißpräzipitate, welche ja in bezug auf Komplementbindung alle anderen Systeme überragen, darauf hin, daß nicht die Ausschaltung des Komplementes die Aufhebung der Schutzwirkung bedingt. Der Schutz, den die Ansammlung der Leukozyten in der Buchhöhle bewirkt, wäre damit zu erklären, daß die injizierten Vibrionen nicht ausreichen, die große Menge der durch die Leukozytenansammlung bedingten Leukozytenstoffe zu adsorbieren.

Da wir in unseren Versuchen noch andere Substanzen kennen gelernt haben, welche die Leukozytenstoffe unwirksam machen, so z. B. das Kaolin, so haben wir auch dieses auf seine Wirkung im Tierkörper geprüft. Die Emulsion, die wir benutzten, war derart hergestellt, daß wir 10 ^{grm} Kaolin in 20 ^{ccm} Kochsalzlösung aufschwemmten und davon pro Tier 0·5 ^{ccm} intraperitoneal injizierten. Beifolgend geben wir die Kaolinversuche wieder.

Versuch VIII.

Maus 67 0·5 Kaolin + 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Stirbt nach 15 Stunden.
„ 68 0·5 „ + 0·1 „ + 0·01 „ „ „ „ 15 „
„ 69 1 ^{ccm} „ ohne Infektion. Lebt.
„ 70 0·1 I.S + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 71 0·1 „ + 0·01 „ „ „
„ 72 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 15 Stunden.

Die Infektion wurde mit der 16. Passage vorgenommen.

Versuch IX.

Maus 73 } Mit Bouillon 0·5 Kaolin + 0·1 I. S. + 0·01 K. i.p. St. n. 4 Tg.
„ 74 } vorbehandelt 0·5 „ + 0·1 „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 75 0·5 Kaolin + 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Stirbt nach 18 Stunden.
„ 76 0·5 „ + 0·1 „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 77 1 ^{ccm} Kaolin ohne Infektion. Lebt.
„ 78 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 79 0·1 „ + 0·01 „ „ „
„ 80 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 18 Stunden.

Die Infektion wurde mit der 17. Passage vorgenommen.



Versuch X.

Maus 81 {Mit Bouillon 0·5 Kaolin + 0·05 I.S. + 0·01 K. i.p. St. n. 18 St.
„ 82 {vorbehandelt 0·5 „ + 0·05 „ + 0·01 „ „ „ „ 26 „
„ 83 0·5 Kaolin + 0·05 I.S. + 0·01 K. i.p. Stirbt nach 18 Stunden.
„ 84 0·5 „ + 0·05 „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 85 1 ccm „ ohne Infektion. Lebt.
„ 86 0·05 I.S. + 0.01 K. i.p. Lebt.
„ 87 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 88 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 18 Stunden.
Die Infektion wurde mit der 18. Passage vorgenommen.

Versuch XI.

Maus 89 {Mit Bouillon 0·5 Kaolin + 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. St. n. 15 St.
„ 90 {vorbehandelt 0·5 „ + 0·1 „ + 0·01 „ „ „ „ 15 „
„ 91 0·5 Kaolin + 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Stirbt nach 15 Stunden.
„ 92 0·5 „ + 0·1 „ + 0·01 „ „ „ „ 15 „
„ 93 0·1 mit Kaolin behandelt I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 94 0·1 „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 95 0.1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 96 0·1 „ + 0·01 „ „ „
„ 97 1 ccm Kaolin i.p. ohne Infektion. Stirbt nach 4 Tagen marantisch.
„ 98 1 „ „ „ „ „ „ „ 4 „ „
„ 99 (Kontrolle) 0·01 K. i.p. Stirbt nach 15 Stunden.
„ 100 „ 0·01 „ „ „ „ 15 „
Die Infektion wurde mit der 28. Passage vorgenommen.

Bevor wir die Kaolinversuche besprechen, müssen wir erwähnen, daß zwei Versuche insofern unregelmäßig ausgefallen sind, als auch die mit Kaolin behandelten Mäuse am Leben geblieben sind.

Wir sehen zunächst, daß das Kaolin und die abgetöteten Vibrionen darin übereinstimmen, daß beide das Streptokokkenimmunserum in der Bauchhöhle von Mäusen unwirksam machen. Es fragt sich nun, ob die Wirkungsweise dieser beiden Substanzen die gleiche ist, d. h. ob auch das Kaolin durch Bindung der leukozytären Schutzstoffe die Wirkung des Immunserums verhindert. Während wir nämlich bei den abgetöteten Choleravibrionen eine direkte Einwirkung auf das Immunserum ausschließen können, da ja, wie wir uns überzeugen konnten, abgetötete Choleravibrionen das Immunserum völlig unbeeinflußt lassen (Versuch III, M. 17, 18, 19), so kann man das Gleiche vom Kaolin nicht ohne weiteres voraussagen. Wir wissen nämlich, daß das Kaolin zur Enteiweißung benutzt wird, und es wäre daher möglich, daß mit der Entfernung des Eiweißes auch die Immunkörper des Serums mitentfernt werden. Nun lassen sich aber, wie wir Versuchen, die einen anderen Zweck verfolgten, entnommen haben, die Eiweißkörper nur aus stark verdünnten Seris mit Kaolin ent-



fernen, und das gilt insbesondere von Immunkörpern. Diese bleiben, wenn es sich um unverdünnte oder wenig verdünnte Sera handelt, quantitativ erhalten, was in eingehenden Versuchen Friedberger und Salecker nachgewiesen haben. Außerdem zeigt auch ein eigens zu dem Zwecke angestellter Versuch, daß das Streptokokkenimmunserum nach der Kaolinbehandlung seinen Schutzwert ungeschwächt beibehält (Versuch XI, M. 93, 94). Da wir also auch für das Kaolin eine direkte Beeinflussung des Immunserums ausschließen können, so liegt auch dafür die Annahme nahe, daß es die Leukozytenstoffe bindet, was sich ja im Reagenzglase so leicht zeigen läßt. Wie weiter aus den Versuchen ersichtlich ist, tritt eine Schutzwirkung der angesammelten Leukozyten gegenüber dem Kaolin nicht so deutlich hervor, wie gegenüber den abgetöteten Vibrionen. Dies dürfte daran liegen, daß das Kaolin, weil es unlöslich ist, viel länger und andauernder wirken kann als die Vibrionen, welche nach kurzer Zeit der Auflösung anheimfallen. Darauf dürfte es auch zurückzuführen sein, daß die Tiere, bei welchen die Infektion unter den Einfluß des Kaolins gesetzt wurde, in der Bauchhöhle allerdings neben den in großer Überzahl vorhandenen Streptokokken manchmal auch Colibazillen aufwiesen, welche während des agonalen Zustandes der Tiere aus dem Darme auswandern und in der jeglicher Schutzkraft entblößten Bauchhöhle sich leicht vermehren können.

Analog den Versuchen von Bail und Kleinhans haben auch wir geprüft, wie sich die Mäuseleukozyten dem Streptokokkenimmunserum gegenüber verhalten, ob sie ebenfalls wie die Meerschweinchenleukozyten erst durch das Immunserum befähigt werden, die Streptokokken zu vernichten. Eine Schwierigkeit, an die man von vornherein denken mußte, lag darin, ob es überhaupt gelingen wird, eine Wirkung der Mäuseleukozyten im Reagensglase zur Darstellung zu bringen. Einerseits ist es ungemein schwer, bei der Maus eine größere Menge von Leukozyten zu erlangen, anderseits ist zu erwarten, daß bei einem so empfindlichen Tiere wie die Maus die Menge der bakteriziden Stoffe in den Leukozyten eine ganz geringe sein wird. Die Versuche waren, wie nachfolgendes Protokoll zeigt, so angeordnet, daß wir zu jedem einzelnen Versuche drei Röhrchen mit Leukozyten brauchten. Entsprechend unseren früheren Angaben müßte jedes Röhrchen 0·15 grm Leukozyten enthalten. Wir mußten uns jedoch infolge der geringen Ausbeute mit geringeren Mengen begnügen und zwar haben wir nur 0·05 grm angewendet. Es war auch hierbei, um für die drei Versuchsröhrchen 0·15 grm zu bekommen, nötig, 10 Mäuse mit je 2 ccm Bouillon intraperitoneal zu injizieren, sie nach 24 Stunden zu verbluten und die in der Bauchhöhle enthaltenen Leukozyten mit Kochsalzlösung auszuspülen. Auch reichte das Blut von 10 Mäusen gerade aus, um die zu dem Ver-

suche nötige Menge von 1·25 ccm Serum zu erhalten. Beifolgend geben wir unsere Experimente wieder.

Versuch XII, XIII und XIV.

	XII.	XIII.	XIV.
	Nach 6 Stunden		
0·25 Serum + 0·05 Leukozyten	250 000	250 000	150 000
0·25 „ + 0·05 „ + 0·005 I. S.	1 500	480	1 200
(0·25 „ + 0·05 „) gefroren . .	250 000	250 000	—
0·25 „ + 0·005 I. S.	35 000	25 000	40 000
0·25 „	250 000	250 000	250 000
Einsaat (sofort gegossen)	8 000	4 500	5 200

Versuch XV.

(0·3 Serum + 0·08 Leukozyten) gefroren	80 000
(0·3 „ + 0·08 „ + 0·005 I. S.) gefroren	30 000
0·3 „	80 000
0·3 „ + 0·005 I. S.	15 000
Einsaat	2 500

Diese Versuche zeigen, daß weder das Mäuseserum noch die Mäuseleukozyten in Mäuseserum aufgeschwemmt den Streptococcus abtöten. Eine deutliche Entwicklungshemmung sehen wir jedoch dort, wo das Immunserum mit dem normalen Mäuseserum zusammenwirkt. Eine mikroskopische Untersuchung der entsprechenden Proben lehrt uns jedoch, daß die Entwicklungshemmung nur vorgetäuscht ist; wir merken nämlich, daß unter dem Einfluß des Immunserums die Streptokokken zu großen Knäueln agglutiniert wachsen, welche aus der Vereinigung sehr zahlreicher kurzer Ketten bestehen. Dadurch muß, obzwar eine sehr üppige Vermehrung stattgefunden hat, eine Verminderung der Kolonienzahl auf der Platte vorgetäuscht werden. Eine wirkliche Abtötung ist in jenen Proben zu konstatieren, wo Leukozyten und Immunserum enthalten sind. In dieser Mischung ist die Kolonienzahl weit geringer als in der Einsaatplatte. Weder die eingefrorenen Leukozyten allein noch mit Immunserum zusammen weisen eine Spur von Bakterizidie auf. Betreffs der Technik der Versuche müssen wir auf unsere früheren Publikationen verweisen, möchten jedoch hier nur erwähnen, daß es nötig ist, jedem Röhrchen vor dem Überschichten mit Agar 1 ccm sterilen erhitzten Serums zuzusetzen, damit die einzelnen Kolonien besser auf der Platte wachsen. Die Platten wurden nach 6 stündigem Aufenthalt der Röhrchen bei 37° gegossen. Obzwar die Plattenversuche ganz klare Resultate lieferten, so haben wir doch noch die einzelnen Proben der mikroskopischen Untersuchung unterzogen, indem wir nach 6 Stunden von jedem Röhrchen ein mikroskopisches



Präparat anfertigten. Während in den Mischungen Serum-Leukozyten, Serum-Leukozyten gefroren, Serum allein in jedem Immersionsgesichtsfeld 10 bis 20 Kokkenpaare zu sehen waren, in der Mischung Serum-Immunserum in jedem zweiten bis dritten Gesichtsfelde ein Konvolut, aus mehr als 50 Kokkenpaaren bestehend, lag, war in den Proben Serum-Immunserum-Leukozyten trotz genauesten Suchens von Streptokokken nichts zu finden, ein Beweis, daß die Keime wirklich zum größten Teile abgetötet wurden. Daß diese Abtötung durch die phagozytosefördernde Eigenschaft des Immunserums bewirkt wurde, geht daraus hervor, daß eingefrorene Leukozyten jeglicher Bakterizidie entbehren, wohl aus dem Grunde, weil die Menge der bakteriziden Stoffe in den Extrakten doch keine so große ist als in den lebenden Leukozyten, wo infolge der Phagozytose der Kontakt mit den Bakterien ein viel inniger ist. Die Resultate von Bail und Kleinhans, welche auch die Gefrierextrakte der Meerschweinchenleukozyten ohne Immunserum wirksam fanden, lassen sich damit erklären, daß die Leukozyten des Meerschweinchens wirksamere bakterizide Stoffe enthalten als die der Maus. Alles in allem geht aus den bisherigen Versuchen mit größter Wahrscheinlichkeit hervor, daß die Bakteriotropine in der Tat als die Schutzstoffe des Streptokokkenimmunserums anzusehen sind.

Nun ist es wichtig, die Frage zu entscheiden, ob die Bakteriotropine die alleinigen Schutzstoffe des Streptokokkenimmunserums darstellen. Wir denken dabei an unsere jüngsten Versuche mit dem Hühnercholeraimmunserum. Diese haben uns nämlich gezeigt, daß in diesem Immunserum zwei verschiedene Schutzstoffe wirksam sind, die bakteriziden und die antiaggressiven. Letztere ließen sich dadurch nachweisen, daß das mit Hühnercholerabazillen behandelte Immunserum, welches bei gleichzeitig mit der Seruminjektion ausgeführter Infektion nicht schützte, seinen Schutzwert wiedererlangte, wenn es 18 Stunden vor der Infektion injiziert wurde. Es wäre nun möglich, daß sich das Streptokokkenimmunserum ähnlich verhält, indem es neben den Bakteriotropinen auch Antiaggressine enthält. Die Versuche, welche uns von deren Vorhandensein oder Fehlen überzeugen sollten, ließen sich leicht anstellen, indem wir das mit Streptokokken behandelte Immunserum 18 Stunden vor der Infektion injizierten und auf seinen Schutzwert prüften.

Versuch XVI.

1·5 ccm Immunserum wird 2 mal mit dem Bodensatz von je 50 ccm Bouillonkultur 1 Stunde bei 37° behandelt:

Maus 101	0·1 I.S. + 0·01 K.	subkutan.	Lebt.
„ 102	0·05 „ + 0·01 „	„	„



Maus	103	0·25 beh. I.S. + 0·01 K. subkutan.	Stirbt nach 14 Stunden.
„	104	0·1 „ „ + 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	105	0·05 „ „ + 0·01 „ „	„ „ 14 „
„	106	0·25 Normalserum + 0·1 K. „	„ „ 14 „
„	107	0·25 beh. I.S. subk. Nach 18 Std. 0·01 K. subk.	Stirbt n. 18 Std.
„	108	0·1 „ „ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	109	0·05 „ „ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	110	0·25 Normalser. subk. „ 18 „ 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	111	0·1 I.S. subk. Nach 18 Std. 0·01 K. subk.	Lebt.
„	112	0·05 „ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„

Das Resultat dieses Versuches, der, wie die weiteren Ausführungen ergeben werden, in verschiedenen Modifikationen wiederholt wurde, stimmt mit dem bei Hühnercholera nicht überein, indem es hier ganz gleichgültig ist, ob das behandelte Immunserum gleichzeitig mit der Infektion verabreicht, oder ob es vorzeitig injiziert wird. In beiden Fällen versagt es vollkommen. Wir sind auf Grund dieser Tatsache zu dem Schlusse berechtigt, daß das Streptokokkenimmunserum ausschließlich den Bakteriotropinen seine Schutzwirkung verdankt.

Es ist ein auch heute noch nicht entschiedener Streit, ob das Streptokokkenimmunserum gegen alle Streptokokkenstämme schützt oder nur gegen jene, welche zur Immunisierung der das Immunserum liefernden Tiere verwendet wurden. Es ist naturgemäß, daß denjenigen Autoren, welche sich mit der fabriksmäßigen Herstellung des Streptokokkenimmunserums befassen, diese Fragen, welche von so eminent praktischer Bedeutung sind, am meisten am Herzen liegen, und in der Tat wurde auch die Diskussion darüber in erster Linie von Meyer und Ruppel (Höchst) und Aronson (E. Schering-Berlin) geführt; Meyer und Ruppel haben die Streptokokken in immunisatorischer Hinsicht in zwei Klassen eingeteilt, und zwar in solche, deren Virulenz durch Tierpassagen gesteigert war, und in solche, welche direkt von pathologischen Affektionen des Menschen gewonnen und welche von vornherein virulent waren. Ein Immunserum, welches nur mit Passagestämmen hergestellt war, wirkt nach der Anschauung dieser Autoren nur gegen diese und versagt gegen die anderen. Auch das Umgekehrte soll der Fall sein. Die für die Praxis wichtige Konsequenz, die daraus zu ziehen war, bestand darin, Immunsera sowohl mit Passagestämmen als auch mit solchen, welche direkt vom Menschen stammten, herzustellen. Aronson hingegen vertritt die Ansicht, daß die eben erwähnten Differenzen nicht bestehen, daß sich eine auf dem Wege der Immunisierung zu konstatierende Verschiedenheit der Streptokokken nicht nachweisen läßt. So schützt ein Immunserum, welches durch Behandlung mit nur einem

Passagestamm gewonnen war, gegen alle Streptokokken, ganz gleichgültig, welcher Herkunft sie sind. Neben anderen Autoren steht insbesondere Marxer auf dem eben gekennzeichneten Standpunkte Aronsons, den er noch dahin erweitert, daß mit Passagestämmen erzeugte Immunsera auch gegen Drusestreptokokken schützen. Von den Forschern, welche zu dieser Frage Stellung genommen haben, nennen wir nur Heimann, dessen in jüngster Zeit erschienene Arbeit einwandfrei erweist, daß das von Aronson hergestellte Immunserum, welches gegen den eigenen Stamm in jeder Hinsicht ausgezeichnet wirkt, vollkommen versagt, wenn die Infektion mit direkt vom Menschen gezüchteten tiervirulenten Streptokokken vorgenommen wird. Auch wir haben uns mit dieser Frage beschäftigt und wollten uns zunächst überzeugen, ob die Differenzen in den beiden Anschauungen in den verschiedenen Versuchsresultaten begründet sind. Aus dem Grunde haben wir uns die Streptokokkenstämme zu verschaffen gesucht, welche Aronson und Marxer zu ihren Versuchen benutzt haben. Herr Dr. Marxer hat uns dieselben in bereitwilligster Weise zur Verfügung gestellt. Wir erhielten folgende Stämme: Streptococcus 8 (Scharlach), Streptococcus 21 (Sepsis), Streptococcus 36 (Sepsis puerperalis), ferner folgende Drusestämme: Stamm 6, 7 und 9. Eine Virulenzprüfung der übersandten Streptokokken ergab, daß sämtliche Stämme mit Ausnahme des Drusestammes 9 in der Dosis von 0·01 ccm eine Maus in weniger als 18 Stunden töteten. Da der Stamm 9 auch in der zehnfach größeren Menge eine Maus nicht krank machte, so wurde dieser Stamm nicht verwendet. Wir haben sowohl die Infektion als auch die Immunserumeinspritzung intraperitoneal, und zwar gleichzeitig vorgenommen. Anbei folgen die entsprechenden Versuche.

Versuch XVII.

Infektion mit Streptococcus 8.

Maus 113	0·1 I.S.	+ 0·01 Bouillonkultur von Str. 8	i.p.	Lebt.
„ 114	(Kontrolle)	0·01 „ „ „ 8	„	Stirbt n. 18 Std.

Infektion mit Streptococcus 21.

Maus 115	0·1 I.S.	+ 0·01 K. von Str. 21	i.p.	Lebt.
„ 116	(Kontrolle)	0·01 „ „ „ 21	„	Stirbt nach 18 Std.

Infektion mit Streptococcus 36.

Maus 117	0·1 I.S.	+ 0·01 K. von Str. 36	i.p.	Lebt.
„ 118	(Kontrolle)	0·01 „ „ „ 36	„	Stirbt nach 18 Std.

Die Infektion sämtlicher Streptokokken wurde mit der 2. Passage vorgenommen.



Versuch XVIII.

Die Infektion wurde mit den Drusestreptokokken vorgenommen.

Maus 119	0·1 I.S. + 0·01	Streptococcus	6	i.p.	Lebt.
„ 120	(Kontrolle) 0·01	„	6	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 121	0·1 I.S. + 0·01	„	7	„	Lebt.
„ 122	(Kontrolle) 0·01	„	7	„	Stirbt nach 18 Std.

Die Infektion wurde mit der 2. Passage vorgenommen.

Die vorangehenden Versuche zeigen zunächst, daß sämtliche hier geprüften Streptokokkenstämme eine hohe Virulenz besitzen, da sie in einer geringen Menge die Tiere binnen kurzer Zeit unter dem Bilde der schwersten Septikämie töten; denn das Herzblut der gestorbenen Mäuse wimmelte mikroskopisch von Streptokokken. Weiter aber bilden diese Versuche eine volle Bestätigung der Arbeit von Marxer, da das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum gegen alle Stämme, sogar gegen die Drusestreptokokken schützt. Wir haben jedoch eine weitere Reihe tiervirulenter Streptokokken nach der Richtung hin geprüft. Folgende Stämme standen uns zur Verfügung: Streptococcus Frankfurt, aus dem hygienischen Institut in Frankfurt, die Stämme Höchst und Bei, aus der Serumfabrik in Höchst, Stamm Piorkowski, Stamm Marek, den wir von einer puerperalen Sepsis züchteten, und Stamm Erysipel. Die Stämme Frankfurt, Höchst und Bei hatten eine ungemein hohe, der Stamm Piorkowski eine mäßige und die Stämme Marek und Erysipel eine geringe Virulenz.

Wir wollen nun untersuchen, wie sich das Streptokokkenimmunserum diesen Stämmen gegenüber verhält.

Versuch XIX.

Die Infektion wurde mit Stamm Höchst vorgenommen.

Maus 123	0·1 I.S. + 0·1	K.	i.p.	Stirbt nach 18 Std.
„ 124	0·1 „ + 0·01	„	„	Lebt.
„ 125	(Kontrolle) 0·1	„	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 126	„ 0·01	„	„	„ „ 34 „

Versuch XX.

Infektion mit Stamm Höchst.

Maus 127	0·1 I.S. + 0·1	K.	i.p.	Stirbt nach 18 Std.
„ 129	0·1 „ + 0·01	„	„	Lebt.
„ 130	0·1 „ + 0·001	„	„	„
„ 131	(Kontrolle) 0·1	„	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 132	„ 0·01	„	„	„ „ 49 „
„ 133	„ 0·001	„	„	„ „ 3 Tagen.

Die Infektion wurde mit der 2. Passage vorgenommen.



Versuch XXI.

Infektion mit Stamm Höchst.

Maus 134	0·025 I.S.	+ 0·1	K.	i.p.	Stirbt nach 14 Std.
„ 135	0·025 „	+ 0·01	„	„	Lebt.
„ 136	0·025 „	+ 0·001	„	„	„
„ 137	(Kontrolle)	0·1	„	„	Stirbt nach 24 Std.
„ 138a	„	0·01	„	„	„ „ 32 „
„ 138b	„	0·001	„	„	„ „ 31 „

Die Infektion wurde mit der 3. Passage vorgenommen.

Wir entnehmen diesen Versuchen, daß das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum selbst in der geringen Dosis von 0·025 gegen den Höchster Streptococcus schützt. Wenn es auch der höchsten Bakteriendosis von 0·1 gegenüber unwirksam ist, so verhindert es doch bei 0·01 und 0·001 die Infektion, welche Mengen die Kontrolltiere in kurzer Zeit mit massenhaften Bakterien in der Bauchhöhle und im Blute töten. Die nächsten Versuche wurden mit Stamm Piorkowski angestellt, den uns Herr Dr. Piorkowski freundlichst überließ, und der die Bezeichnung Streptococcus pyogenes trug.

Versuch XXII.

Infektion mit Stamm Piorkowski.

Maus 139	0·1 I.S.	+ 0·1	K.	i.p.	Lebt.
„ 140	0·1 „	+ 0·01	„	„	„
„ 141	(Kontrolle)	0·1	„	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 142	„	0·01	„	„	Lebt.

Versuch XXIII.

Infektion mit Stamm Piorkowski.

Maus 143	0·1 I.S.	+ 0·5	K.	i.p.	Lebt.
„ 144	0·1 „	+ 0·1	„	„	„
„ 145	0·1 „	+ 0·01	„	„	„
„ 146	(Kontrolle)	0·5	„	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 147	„	0·1	„	„	„ „ 32 „
„ 148	„	0·01	„	„	Lebt.

Die Infektion wurde mit der 2. Passage vorgenommen.

Auch gegen diesen Stamm, der zwar eine geringe Virulenz besitzt, übt das Streptokokkenimmunserum eine deutliche Schutzwirkung aus. Der nächste Stamm, den wir prüften, war der Streptococcus Frankfurt.



Versuch XXIV.

Infektion mit Stamm Frankfurt.

Maus	149	0·1 I.S.	+ 0·01	K.	i.p.	Stirbt	nach	15	Std.
„	150	0·1 „	+ 0·001	„	„	„	„	32	„
„	151	0·1 „	+ 0·0001	„	„	„	„	32	„
„	152	(Kontrolle)	0·01	„	„	„	„	15	„
„	153	„	0·001	„	„	„	„	32	„
„	154	„	0·0001	„	„	„	„	32	„

Versuch XXV.

Infektion mit Stamm Frankfurt.

Maus	155	0·1 I.S.	+ 0·00001	K.	i.p.	Stirbt	nach	40	Std.
„	156	0·1 „	+ 0·000001	„	„	„	„	40	„
„	157	0·1 „	+ 0·0000001	„	„	„	„	40	„
„	158	(Kontrolle)	0·00001	„	„	„	„	40	„
„	159	„	0·000001	„	„	„	„	40	„
„	160	„	0·0000001	„	„	„	„	48	„

Wie diese Versuche zeigen, verleiht das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum gegenüber dem Frankfurter Stamm nicht den geringsten Schutz, da die immunisierten Tiere selbst mit der allergeringsten Bakterienmenge in derselben Zeit wie die Kontrolltiere sterben. Nun folgen die Versuche mit dem Stamm Bei.

Versuch XXVa.

Infektion mit Stamm Bei.

Maus	161	0·1 I.S.	+ 0·1	K.	i.p.	Stirbt	nach	18	Std.
„	162	0·1 „	+ 0·01	„	„	„	„	32	„
„	163	(Kontrolle)	0·1	„	„	„	„	18	„
„	164	„	0·01	„	„	„	„	50	„

Versuch XXVI.

Infektion mit Stamm Bei.

Maus	165	0·1 I.S.	+ 0·1	K.	i.p.	Stirbt	nach	14	Std.
„	166	0·1 „	+ 0·01	„	„	„	„	26	„
„	167	0·1 „	+ 0·001	„	„	„	„	26	„
„	168	(Kontrolle)	0·1	„	„	„	„	14	„
„	169	„	0·01	„	„	„	„	32	„
„	170	„	0·001	„	„	„	„	32	„

Die Infektion wurde mit der 2. Passage vorgenommen.

Versuch XXVII.

Infektion mit Stamm Bei.

Maus 171	0·1 I. S.	+ 0·001	K.	i.p.	Stirbt nach	18	Std.
„ 172	0·1 „	+ 0·0001	„	„	„ „	42	„
„ 173	0·1 „	+ 0·00001	„	„	„ „	24	„
„ 174	(Kontrolle)	0·001	„	„	„ „	18	„
„ 175	„	0·0001	„	„	„ „	18	„
„ 176	„	0·00001	„	„	„ „	36	„

Die Infektion wurde mit der 3. Passage vorgenommen.

Auch gegenüber dem Stamm Bei ist von einer Schutzwirkung von seiten des Streptokokkenimmunserums nichts zu merken. Im nächsten Versuche wurde der Stamm Erysipel geprüft.

Versuch XXVIII.

Infektion mit Stamm Erysipel.

Maus 177	0·1 I. S.	+ 0·5	K.	i.p.	Stirbt nach 18 Std.
„ 178	0·1 „	+ 0·1	„	„	Lebt.
„ 179	(Kontrolle)	0·5	„	„	Stirbt nach 18 Std.
„ 180	„	0·1	„	„	Lebt.

Versuch XXIX.

Infektion mit Stamm Erysipel.

Maus 181	0·1 I. S.	+ 0·5	K.	i.p.	Stirbt nach	8	Std.
„ 182	0·1 „	+ 0·1	„	„	„ „	24	„
„ 183	(Kontrolle)	0·5	„	„	„ „	9	„
„ 184	„	0·1	„	„	„ „	24	„

Hier kam ein sehr schwach virulenter Stamm zur Verwendung, und doch hat das Serum gar nicht gewirkt, selbst nicht gegenüber der gerade knapp tödlichen Dosis; denn die Tiere mit 0·1 Kultur (Maus 182 u. 184) zeigen bei der Sektion nur vereinzelte Streptokokken, während die Mäuse mit 0·5 Kultur schwerste Sepsis aufweisen. Schließlich wurden noch mit Stamm Marek zwei Versuche angestellt, die wir beifolgend wiedergeben.

Versuch XXX.

Infektion mit Stamm Marek.

Maus 185	0·1 I. S.	+ 0·5	K.	i.p.	Stirbt nach	12	Std.
„ 186	0·1 „	+ 0·25	„	„	„ „	18	„
„ 187	0·1 „	+ 0·1	„	„	„ „	18	„
„ 188	(Kontrolle)	0·5	„	„	„ „	8	„
„ 189	„	0·25	„	„	„ „	18	„
„ 190	„	0·1	„	„	„ „	48	„



Versuch XXXI.

Infektion mit Stamm Marek.

Maus 191	0·1 I.S. + 0·1 K. i.p.	Stirbt nach 32 Std.
„ 192	0·1 „ + 0·01 „ „	Lebt.
„ 193	(Kontrolle) 0·1 „ „	Stirbt nach 32 Std.
„ 194	„ 0·01 „ „	Lebt.

Diese Infektion wurde mit der 5. Passage vorgenommen.

Das Immunserum erwies sich auch gegenüber diesem schwach virulenten Stamm als völlig wirkungslos.

Die hier ermittelten Tatsachen zeigen ganz unzweifelhaft, daß das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum nicht gegen alle Streptokokkenstämme schützt, daß es sowohl hochvirulente als auch schwachvirulente Stämme gibt, gegen die es vollkommen versagt. Andererseits aber wirkt es gegenüber einer Reihe von fremden Stämmen ebenso wie gegenüber dem Originalstamm. Nun wissen wir aber, daß das käufliche Immunserum nicht durch Immunisierung mit einem einzigen Stamm hergestellt wird, sondern, wie der beigegebene Prospekt sagt, „durch gleichzeitige Vorbehandlung der Pferde mit zahlreichen, direkt von verschiedenen schweren Affektionen des Menschen ohne Tierpassage gezüchteten Streptokokkenkulturen" gewonnen wird. Demnach war es notwendig, zu eruieren, ob der Schutz, den das Immunserum gegen die zu unserer Untersuchung verwendeten Stämme ausübt, von den Immunkörpern des Passagestammes oder der direkt vom Menschen gezüchteten Streptokokken herrührt. Diese Frage mußte sich durch Bindungsversuche entscheiden lassen, da wir gesehen haben, daß abgetötete Streptokokkenleiber sehr leicht durch spezifische Immunkörperadsorption die Schutzwirkung des Immunserums aufheben. Die Bindung wurde derart vorgenommen, daß jedesmal 0·75 ccm unverdünnten Serums mit dem bei 60° abgetöteten Bodensatz von je zwei Serumkulturen zweimal bei 37° 1 Stunde behandelt wurden. Es wurde zunächst geprüft, wie sich die Stämme, gegen die das Immunserum schützt, diesbezüglich verhalten.

Versuch XXXII.

Maus 195	0·1	unbeh. I.S.	+ 0·01 Str. Ar. i.p.	Lebt.
„ 196	0·1 mit Str. Arons. beh.	„	+ 0·01 „ „ „	St. n. 14 Std.
„ 197	0·1 „ „ 8 „	„	+ 0·01 „ „ „	„ „ 14 „
„ 198	0·1 „ „ 21 „	„	+ 0·01 „ „ „	„ „ 14 „
„ 199	0·1 „ „ 36 „	„	+ 0·01 „ „ „	„ „ 14 „
„ 200	(Kontrolle) 0·01 Streptococcus Aronson i.p.			„ „ 14 „

Die Infektion wurde mit der 29. Passage vorgenommen.



(Fortsetzung.)

Maus 201	0·1 unbeh. I.S.	+ 0·05 Str. 8 i.p.	Lebt.
„ 202	0·1 mit Str. Arons. beh. „	+ 0·05 „ 8 „	St. n. 14 Std.
„ 203	0·1 „ „ 8 „ „	+ 0·05 „ 8 „	„ „ 14 „
„ 204	0·1 „ „ 21 „ „	+ 0·05 „ 8 „	„ „ 14 „
„ 205	0·1 „ „ 36 „ „	+ 0·05 „ 8 „	„ „ 14 „
„ 206	(Kontrolle)	0·05 Streptococcus 8 i.p.	„ „ 14 „

Die Infektion wurde mit der 4. Passage vorgenommen.

Maus 207	0·1 unbeh. I.S.	+ 0·05 Str. 21 i.p.	Lebt.
„ 208	0·1 mit Str. Arons. beh. „	+ 0·05 „ 21 „	St. n. 15 Std.
„ 209	0·1 „ „ 8 „ „	+ 0·05 „ 21 „	„ „ 15 „
„ 210	0·1 „ „ 21 „ „	+ 0·05 „ 21 „	„ „ 15 „
„ 211	0·1 „ „ 36 „ „	+ 0·05 „ 21 „	„ „ 15 „
„ 212	(Kontrolle)	0·05 Streptococcus 21 i.p.	„ „ 15 „

Die Infektion wurde mit der 4. Passage vorgenommen.

Maus 213	0·1 unbeh. I.S.	+ 0·05 Str. 36 i.p.	Lebt.
„ 214	0·1 mit Str. Arons. beh. „	+ 0·05 „ 36 „	St. n. 15 Std.
„ 215	0·1 „ „ 8 „ „	+ 0·05 „ 36 „	„ „ 15 „
„ 216	0·1 „ „ 21 „ „	+ 0·05 „ 36 „	„ „ 15 „
„ 217	0·1 „ „ 36 „ „	+ 0·05 „ 36 „	„ „ 15 „
„ 218	(Kontrolle)	0·05 Streptococcus 36 i.p.	„ „ 15 „

Die Infektion wurde mit der 4. Passage vorgenommen.

Der vorangehende Versuch ist in der Weise angeordnet, daß das mit dem Originalstamm (Streptococcus Aronson) und den Stämmen 8, 21 und 36 behandelte Immunserum gegenüber diesen Stämmen geprüft wurde, und zwar derart, daß wir jedesmal das mit allen Stämmen behandelte Immunserum Mäusen injizierten, welche dann mit je einem Stamm infiziert wurden. Gegen alle hier verwendeten Stämme schützt das Immunserum ebenso wie gegen den Originalstamm. Das Resultat des Versuches ist ganz eindeutig, es zeigt, daß alle Stämme ganz gleichmäßig das Immunserum durch Immunkörperbindung seines Schutzwertes vollkommen berauben, so daß es mit einem Stamm behandelt, gegen alle unwirksam geworden ist. Daraus geht hervor, daß der Schutz, den das Immunserum gegen diese fremden Stämme verleiht, durch die Schutzstoffe bedingt ist, welche der Originalstamm erzeugt hat. Das Immunserum wirkt also hier ganz der Anschauung Aronsons entsprechend im monovalenten Sinne. In weiteren Versuchen wurde das Immunserum mit den Drusestreptokokken und den übrigen fremden Stämmen behandelt, und die Infektion mit Stamm Aronson vorgenommen.



Versuch XXXIII.

Maus 219 0·1 mit Str. 6 beh. I. S. + 0·001 K. i.p. Stirbt nach 18 Std.
„ 220 0·05 „ „ 6 „ „ + 0·001 „ „ „ „ 24 „
„ 221 0·1 „ „ 7 „ „ + 0·001 „ „ „ „ 18 „
„ 222 0·05 „ „ 7 „ „ + 0·001 „ „ „ „ 18 „
„ 223 0·1 „ „ Bei „ „ + 0·001 „ „ Lebt.
„ 224 0.05 „ „ „ „ „ + 0·001 „ „ „
„ 225 0·1 I. S. + 0·001 K. i.p. Lebt.
„ 226 0·05 „ + 0·001 „ „ „
„ 227 (Kontrolle) 0·001 „ „ Stirbt nach 18 Std.
„ 228 „ 0·001 „ „ „ „ 18 „

Die Infektion wurde mit Stamm Aronson vorgenommen.

Versuch XXXIV.

Maus 229 0·1 mit Str. Aronson beh. I. S. + 0·01 K. i.p. St. n. 18 Std.
„ 230 0.05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 231 0·1 „ „ Piorkowski „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 232 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 233 0·1 „ „ Höchst „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 234 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 235 0·1 „ „ Bei „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 236 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 237 0·1 „ „ Marek „ „ + 0·01 „ „ „
„ 238 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 239 0·1 „ „ Erysipel „ „ + 0·01 „ „ „
„ 240 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 241 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 242 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 243 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 18 Std.
„ 244 „ 0·01 „ „ „ „ 18 „

Die Infektion wurde mit Stamm Aronson vorgenommen.

Der Ausfall dieser Versuche beweist klar, daß nur jene Stämme die schützenden Immunkörper binden, gegen welche das Immunserum schützt, daß hingegen jene Stämme, welche es nicht beeinflußt, den Schutzwert des Immunserums intakt lassen. Dies bestätigt von neuem, daß nur ein Immunkörper, u. z. der vom Originalstamm erzeugte, die Schutzwirkung des Immunserums bedingt.

Für das Versagen der Schutzwirkung gegen fremde Stämme ist noch folgender Umstand in Erwägung zu ziehen. Man findet häufig die Angabe, daß das Streptokokken-Immunserum viel besser wirksam ist, wenn längere Zeit vor der Infektion injiziert wird. Es wäre also immerhin an die Möglichkeit zu denken, daß das Immunserum gegen jene Stämme, gegen welche es bei gleichzeitiger Infektion nicht schützt, schutzverleihend wirkt, wenn es

vorzeitig injiziert wird. Da wir außerdem festgestellt haben, daß die antiaggressiven Schutzstoffe des Hühnercholeraimmunserums erst wirken, wenn sie einige Zeit im Körper anwesend waren, so wäre es möglich, daß hier ähnliche Verhältnisse vorliegen. Aus dem Grunde haben wir einen vergleichenden Versuch angestellt, indem wir den Stamm Bei, gegen welchen das Immunserum nicht schützt, sowohl gleichzeitig mit dem Immunserum als auch 18 Stunden später injizierten, um zu sehen, ob das vorzeitig einverleibte Immunserum gegen diesen Stamm wirksam ist. Gleichzeitig wurde der analoge Versuch mit dem Originalstamm angestellt, um zu prüfen, wie gegen diesen das vorzeitig injizierte Immunserum schützt. Dieses wurde intraperitoneal, die Streptokokken subkutan eingespritzt, da es unstatthaft ist, beide Injektionen intraperitoneal vorzunehmen, weil durch die Leukozytenansammlung in der Bauchhöhle eine nicht spezifische Resistenz hervorgerufen wird, welche eine Immunserumwirkung vortäuschen kann. Außerdem haben wir, um jegliche nichtspezifischen Einflüsse auszuschalten, den Kontrolltieren entsprechend dem Streptokokkenimmunserum Choleraimmunserum injiziert. Wir haben in diesem Versuche nicht die Immunserummengen, sondern die Infektionsdosen variiert.

Versuch XXXV.

Maus	245	0·1	I.S.	+ 0·1	Str. Arons. i.p.	Stirbt nach 5 Tagen.
„	246	0·1	„	+ 0·01	„ „ „	Lebt.
„	247	0·1	„	+ 0·001	„ „ „	„
„	248	0·1	Chol. I.S.	+ 0·1	Str. Arons. i.p.	Stirbt nach 10 Stunden.
„	249	0·1	„ „	+ 0·01	„ „ „	„ „ 18 „
„	250	0·1	„ „	+ 0·001	„ „ „	„ „ 24 „
„	251	0·1	I.S. subk. n. 18 Std.	0·1	Str. Arons i.p.	St. n. 18 Std.
„	252	0·1	„ „ „ 18 „	0·01	„ „ „	„ „ 4 Tg.
„	253	0·1	„ „ „ 18 „	0·001	„ „ „	Lebt.
„	254	0·1	Chol. I.S. subk. n. 18 St.	0·1	Str. Ar. i.p.	St. n. 12 Std.
„	255	0·1	„ „ „ „ 18 „	0·01	„ „ „	„ „ 18 „
„	256	0·1	„ „ „ „ 18 „	0·001	„ „ „	„ „ 18 „
„	257	0·1	I.S.	+ 0·1	Str. Bei i.p.	Stirbt nach 22 Stunden.
„	258	0·1	„	+ 0·01	„ „ „	„ „ 25 „
„	259	0·1	„	+ 0·001	„ „ „	„ „ 48 „
„	260	0·01	Chol. I.S.	+ 0·1	Str. Bei i.p.	„ „ 22 „
„	261	0·01	„ „	+ 0·01	„ „ „	„ „ 26 „
„	262	0·01	„ „	+ 0·001	„ „ „	„ „ 48 „
„	263	0·1	I.S. subk. n. 18 Std.	0·1	Str. Bei i.p.	„ 14 „
„	264	0·1	„ „ „ 18 „	0·01	„ „ „	„ 26 „
„	265	0·1	„ „ „ 18 „	0·001	„ „ „	„ 47 „
„	266	0·1	Chol. I.S. subk. n. 18 St.	0·1	„ „ „	„ 18 „
„	267	0·1	„ „ „ „ 18 „	0·01	„ „ „	„ 22 „
„	268	0·1	„ „ „ „ 18 „	0·001	„ „ „	„ 40 „



Auch in dieser Versuchsanordnung ist das Immunserum gegen den Stamm Bei völlig wirkungslos, ja es zeigt sich, daß das vorzeitig injizierte Immunserum gegen den eigenen Stamm weniger wirksam ist als bei gleichzeitiger Injektion. Da dies den allgemeinen Angaben widerspricht, und da es uns aus praktischen und theoretischen Gründen wichtig erscheint, haben wir diese Frage einer genaueren Untersuchung unterzogen. Wir haben, wie die nachfolgenden Versuche zeigen, die zeitlich getrennte Infektion örtlich in folgender Weise variiert: Immunseruminjektion und Infektion intraperitoneal, Immunseruminjektion subkutan und Infektion intraperitoneal, Immunseruminjektion intraperitoneal und Infektion subkutan.

Versuch XXXVI.

Maus	269	0·1	I. S. + 0·005 K. i.p.	Lebt.
„	270	0·05	„ + 0·005 „ „	„
„	271	0·01	„ + 0·005 „ „	„
„	272	0·005	„ + 0·005 „ „	„
„	273	0·1	I. S. i.p. n. 18 Std. 0·005 K. i.p.	St. n. 24 Std.
„	274	0·05	„ „ „ 18 „ 0·005 „ „	Lebt.
„	275	0·01	„ „ „ 18 „ 0·005 „ „	„
„	276	0·005	„ „ „ 18 „ 0·005 „ „	St. n. 24 Std.
„	277	(Kontr.)	0·005 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamme vorgenommen.

Versuch XXXVII.

Maus	278	0·1	I. S. + 0·01 K. i.p.	Lebt.
„	279	0·05	„ + 0·01 „ „	„
„	280	0·05	„ + 0·01 „ „	„
„	281	0·005	„ + 0·01 „ „	„
„	282	0·001	„ + 0·01 „ „	„
„	283	0·1	I. S. subk. n. 18 Std. 0·01 K. i.p.	Lebt.
„	284	0·05	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„
„	285	0·01	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„
„	286	0·005	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„
„	287	0·001	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	St. n. 14 Std.
„	288	0·1	I. S. + 0.01 K. subk.	Lebt.
„	289	0·05	„ + 0·01 „ „	„
„	290	0·01	„ + 0·01 „ „	„
„	291	0·005	„ + 0·01 „ „	„
„	292	0·001	„ + 0·01 „ „	St. n. 24 Std.
„	294	0·1	I. S. i.p. n. 18 Std. 0·01 K. subk.	Lebt.
„	295	0·05	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„
„	296	0·01	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	St. n. 36 Std.
„	297	0·005	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„ „ 32 „
„	298	0·001	„ „ „ 18 „ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	299	(Kontr.)	0·01 K. i.p.	Stirbt nach 14 Stunden.
„	300	„	0·01 „ subk.	„ „ 24 „

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Versuch XXXVIII.

	Nr.	Dosis	Behandlung	Infektion	Ergebnis
Maus	301	0·1	I.S. +	0·025 K. subk.	Lebt.
„	302	0·05	„ +	0·025 „ „	„
„	303	0·01	„ +	0·025 „ „	„
„	304	0·005	„ +	0·025 „ „	„
„	305	0·001	„ +	0.025 „ „	Stirbt nach 36 Stunden.
„	306	0·1	I.S. i.p. n. 18 Std.	0·025 K. subk.	Lebt.
„	307	0·05	„ „ „ 18 „	0·025 „ „	St. n. 36 Std.
„	308	0·01	„ „ „ 18 „	0·025 „ „	„ „ 36 „
„	309	0·005	„ „ „ 18 „	0·025 „ „	„ „ 24 „
„	310	0·001	„ „ „ 18 „	0·025 „ „	„ „ 24 „
„	311	(Kontr.) 0·1	N.S. +	0·025 K. subk.	St. n. 20 Std.
„	312	„ 0·1	„ +	0·025 „ „	„ „ 20 „
„	313	„ 0·1	„ i.p. n. 18 Std.	0·025 K. subk.	St. n. 20 Std.
„	314	„ 0·1	„ „ „ 18 „	0·025 „ „	„ „ 20 „

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamme vorgenommen.

Versuch XXXIX.

	Nr.	Dosis	Behandlung	Infektion	Ergebnis
Maus	315	0·1	I.S. +	0·01 K. subk.	Lebt.
„	316	0·05	„ +	0·01 „ „	„
„	317	0·01	„ +	0·01 „ „	„
„	318	0·005	„ +	0·01 „ „	„
„	319	0·1	I.S. i.p. n. 18 Std.	0·01 K. subk.	Lebt.
„	320	0.05	„ „ „ 18 „	0·01 „ „	St. n. 32 Std.
„	321	0·01	„ „ „ 18 „	0·01 „ „	„ „ 24 „
„	322	0·005	„ „ „ 18 „	0·01 „ „	„ „ 24 „
„	323	(Kontr.) 0·1	N.S. +	0·01 K. subk.	St. n. 24 Std.
„	324	„ 0·1	„ i.p. n. 18 Std.	0·01 K. subk.	St. n. 24 Std.

Die Infektion wurde mit dem nicht passierten Stamm vorgenommen.

Eine vorteilhaftere Wirkung des vorzeitig injizierten Immunserums ist nach diesen Versuchen nicht zu konstatieren, sie zeigen im Gegenteil, daß das gleichzeitig mit den Bakterien eingespritzte Immunserum ausnahmslos besser schützt. Beim vorzeitig injizierten Immunserum ist jedoch ein Unterschied wahrzunehmen, ob die nachträgliche Infektion subkutan oder intraperitoneal erfolgt. Bei subkutaner Infektion ist die Abschwächung viel deutlicher zu merken. Sie ist, wenn auch in geringerem Maße bei intraperitonealer Infektion vorhanden (M. 276, 287), da, wie Versuch XXXVI zeigt, trotz der durch die vorzeitig erfolgte intraperitoneale Immunseruminjektion zustandegekommenen Leukozytenansammlung Maus 276 stirbt, während Maus 272 am Leben bleibt. In diesem Versuche ist auch eine Unregelmäßigkeit insofern zu konstatieren, als die mit der höchsten Immunserumdosis behandelte Maus (273) der Infektion erliegt. Auch dieser Umstand weist darauf hin, daß das vorzeitig injizierte Serum nicht so sicher wirkt. Die Differenz bei örtlich verschiedener Infektion läßt

sich damit erklären, daß im Peritoneum die Leukozyten, denen ja bei diesem Immunserum die Hauptrolle zukommt, viel rascher in Aktion treten können, als in der Subkutis, sodaß hier bei nicht vollkommen ausreichenden Immunserummengen infolge Leukozytenmangels eine lokale Vermehrung und eine dadurch bedingte Infektion leichter erfolgen kann als in der Bauchhöhle. Weiter ist aus diesen Befunden der für die Immunserumprüfung wichtige Schluß zu ziehen, daß die günstigste Wirkung dann erzielt wird, wenn Immunserum und Streptokokken gleichzeitig und an denselben Ort injiziert werden. Es ist vorteilhaft, erst das Immunserum, unmittelbar darauf die Kultur zu injizieren, weil das Immunserum ein Desinfektionsmittel enthält, welches im Reagenzglas eine Abschwächung der Bakterien bedingen kann, wodurch fehlerhafte Schlüsse leicht möglich sind. Auch kann ein längerer Kontakt der Keime mit dem Immunserum zu viel Schutzstoffe binden und dadurch eine Abschwächung bewirken. Da nämlich die mit den Immunkörpern sensibilisierten Kokken in den Säften nicht aufgelöst, sondern von den Leukozyten abgetötet werden, und letztere erst einige Zeit nach der Infektion in stärkerem Grade in Aktion treten, so werden sich die Kokken, welche den Leukozyten entgangen sind, vermehren, und diese neue Generation kann hinterher, wenn das Immunserum bereits im Reagenzglase aufgebraucht wurde, eine Infektion veranlassen. Wir haben auch aus diesem Grunde einen Versuch angestellt, um zu sehen, ob sensibilisierte Kokken nach Entfernung des Immunserums infektionsfähig sind.

Versuch XL.

Je 1 ccm Immunserum und 1 ccm normales Pferdeserum werden mit 1 ccm Bouillonkultur von Streptokokken eine Stunde bei 37° behandelt, hierauf zentrifugiert, die Bodensätze gewaschen und auf 1 ccm Bouillon aufgefüllt. Davon erhalten:

Maus	325	0·1	mit I. S. sensib. Str. subk.	Stirbt nach 3 Tagen.
,,	326	0·05	,, ,, ,, ,, ,,	Lebt.
,,	327	0·01	,, ,, ,, ,, ,,	Stirbt nach 2 Tagen.
,,	328	0·001	,, ,, ,, ,, ,,	,, ,, 3 ,,
,,	329	0·1	,, norm. Ser. sensib. Str. subk.	Stirbt nach 18 Stunden.
,,	330	0·05	,, ,, ,, ,, ,, ,,	,, ,, 18 ,,
,,	331	0·01	,, ,, ,, ,, ,, ,,	,, ,, 18 ,,
,,	332	0·001	,, ,, ,, ,, ,, ,,	,, ,, 18 ,,

Eine Plattenkultur der mit Immunserum und Normalserum sensibilisierten Streptokokken ergibt gleich reichliches Wachstum.

Wir merken nach diesem Versuch einen deutlichen Effekt der spezifischen Sensibilisierung; während nämlich die mit normalem Serum behandelten Kokken die Tiere innerhalb 18 Stunden töten, bleibt von den



vier Mäusen, welche mit den spezifisch behandelten Kokken infiziert sind, eine am Leben, eine stirbt nach 2 und zwei sterben nach 3 Tagen. Daß für dieses Überleben nicht vielleicht eine Abtötung durch das mit einem Antiseptikum versetzte Immunserum die Schuld trägt, geht daraus hervor, daß die mit Immunserum behandelten Kokken, wie der Plattenversuch zeigt, an Zahl gegenüber den mit Normalserum behandelten nicht vermindert sind. Wir haben oben bereits darauf hingewiesen, welche Momente in Betracht zu ziehen sind, daß die Tiere nicht vollkommen überleben. In erster Linie der Umstand, daß hier nicht eine bakterizide Immunität vorliegt; denn die Bakterien, welche in den Säften untergehen, werden sofort aufgelöst, wenn sie in sensibilisiertem Zustand injiziert werden. Hier muß erst die Intervention der Leukozyten abgewartet werden; da diese jedoch in der Subkutis nicht sehr rasch in Aktion treten, so finden einige Kokken Zeit sich zu vermehren, und da sie nicht sensibilisiert sind und außerdem eine hohe Virulenz besitzen, werden sie leicht hinterher infizieren. Sonach ist die hohe Virulenz das zweite Moment, welches hier in Betracht kommt.

Nach den bisherigen Versuchen ist mit Sicherheit festgestellt, daß der Schutz des Streptokokkenimmunserums gegen fremde Stämme nur durch einen Immunkörper bedingt ist, daß es virulente und wenig virulente Stämme gibt, welche einerseits zu diesem Immunkörper keine Beziehung haben, weil sie ihn nicht binden, andrerseits auch nicht zum Immunserum überhaupt, weil es gegen diese Stämme nicht schützt. Es war nun sowohl von theoretischer als insbesondere von praktischer Wichtigkeit, zu untersuchen, wie sich Streptokokkenstämme, die von verschiedenen Affektionen des Menschen gezüchtet wurden, dem Streptokokkenimmunserum gegenüber verhalten. Die Stämme jedoch, die wir prüften, besaßen insgesamt für Mäuse eine so geringe Virulenz, daß es nicht möglich war, zu untersuchen, ob das Immunserum gegen sie schützt. Es blieb daher nur der eine Weg übrig, zu sehen, ob sich unter unseren Stämmen auch solche finden, welche mit den im Immunserum enthaltenen Schutzstoffen in Reaktion treten, d. h. ob sie imstande sind, die Immunkörper zu binden und das Immunserum unwirksam zu machen. Es ist klar, daß es praktisch sehr von Vorteil wäre, wenn sich unter diesen Streptokokken zahlreiche Stämme fänden, welche die Schutzstoffe des Immunserums binden würden, weil dann der Schluß gerechtfertigt wäre, daß das Aronsonsche Serum die Fähigkeit besitzt, eine Streptokokkeninfektion des Menschen zu beeinflussen. Folgende Stämme[1] wurden untersucht:

[1] Sämtliche Stämme bildeten auf der Blutplatte ein starkes Hämolysin.

1. Stamm Sal. (von einer Panophthalmie isoliert.)
2. „ Jir. (von einem Scharlachblut gezüchtet.)
3. „ Kleinh. (aus Sepsisblut gezüchtet.)
4. „ Gnad (aus Scharlachblut gezüchtet.)
5. „ Ho (aus Sepsisblut gezüchtet.)
6. „ Schmei. (aus Scharlachblut.)
7. „ Rossip. (aus einem septischen Scharlach.)
8. „ Rubr. (aus Sepsisblut.)
9. „ Psan (aus Scharlachblut.)
10. „ Hess („ „ „
11. „ Virid. (aus einer eitrigen Peritonitis.)
12. „ Vilim. (aus Scharlachblut.)
13. „ Bon. („ „ „
14. „ S. (aus Sepsisblut.)

Mit diesen Stämmen wurde das Immunserum genau so wie in den früheren Erschöpfungsversuchen behandelt, und die mit dem behandelten Serum immunisierten Mäuse wurden dann mit dem Stamm Aronson infiziert. Bei jedem Versuche wurden, wie aus den nachfolgenden Protokollen ersichtlich, folgende Kontrollen aufgestellt: Zunächst das unbehandelte Immunserum, um zu zeigen, daß dieses in den angewandten Dosen sicher schützt. Dann das mit dem Stamm Aronson behandelte Immunserum, um zu zeigen, daß sich das Immunserum sicher erschöpfen läßt. Mit Stamm Ar. wurde das Immunserum nur einmal behandelt, um zu beweisen, wie leicht es sich spezifisch erschöpfen läßt. Mit sämtlichen übrigen Stämmen wurde das Serum zweimal behandelt, um sicher zu sein, ob die betreffenden Stämme den Serumimmunkörper binden. Wir haben in den meisten Versuchen die Immunserumkonzentrationen 0·1 und 0·05 gewählt, weil gegen die hohe Infektionsdosis von 0·01 Bouillonkultur eine geringere Immunserummenge nicht mehr mit Sicherheit schützte.

Versuch XLI.

Das Immunserum wurde in diesen wie in den folgenden Versuchen in der Weise mit den verschiedenen Streptokokkenstämmen behandelt, daß stets 0·5 ccm des unverdünnten Serums zweimal mit dem abgetöteten und auf Sterilität geprüften Bodensatz von je 2 Serumkulturen (im ganzen 4 Kulturen), deren Oberfläche und Kondenswasser reichlich bewachsen waren, 1 Stunde bei 37° digeriert und hierauf klar zentrifugiert wurde. Wie bereits erwähnt, wurde das Immunserum mit dem Stamm Ar. nur einmal mit 2 Kulturen behandelt.

Maus	333	0·1	mit St. Ar. beh. I. S.	+ 0·01 K. i.p.	St. n. 18 Std.
„	334	0·05	„ „ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	335	0·02	„ „ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 18 „
„	336	0·1	„ „ Sal. „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 4 Tg.
„	337	0·05	„ „ „ „ „	+ 0·01 „ „	Lebt.
„	338	0·02	„ „ „ „ „	+ 0·01 „ „	„



Maus 339 0·1 mit St. Jir. beh. I.S. + 0·01 K. i.p. St. n. 18 Std.
„ 340 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 341 0·02 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 342 0.1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 343 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 344 0·02 „ + 0·01 „ „ „
„ 345 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 18 Stunden.

Die Infektion wurde mit der 5. Passage vorgenommen.

Versuch XLII.

Wiederholung des vorhergehenden Versuchs.

Maus 346 0·1 mit St. Sal. beh. I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 347 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 348 0·02 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 349 0·1 „ „ Jir. „ „ + 0·01 „ „ St. n. 10 Std.
„ 350 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 10 „
„ 351 0.02 „ „ „ „ „ + 0.01 „ „ „ „ 10 „
„ 352 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 353 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 354 0·02 „ + 0·01 „ „ Stirbt nach 18 Stunden.
„ 355 (Kontrolle) 0·01 „ „ „ „ 10 „

Die Infektion wurde mit der 7. Passage vorgenommen.

Versuch XLIII.

Maus 356 0·1 mit St. Frankf. beh. I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 357 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 358 0.025 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ St. n. 40. Std.
„ 359 0·1 „ „ Kleinh. „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 360 0·05 „ „ „ „ „ + 0.01 „ „ „
„ 361 0·025 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ St. n. 40 Std.
„ 362 0·1 „ „ Gnad „ „ + 0·01 „ „ „ „ 48 „
„ 363 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 364 0·025 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ (!)
„ 365 0·1 I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 366 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 367 0·025 „ + 0·01 „ „ Stirbt nach 21 Stunden.
„ 368 (Kontrolle) 0·01 „ „ „ „ 15 „

Die Infektion wurde mit der 8. Passage vorgenommen.

Versuch XLIV.

Wiederholung des vorhergehenden Versuches.

Maus 369 0·1 mit St. Frankf. beh. I.S. + 0·01 K. i.p. Lebt.
„ 370 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 371 0·1 „ „ Kleinh. „ „ + 0.01 „ „ „
„ 372 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 373 0·1 „ „ Gnad „ „ + 0·01 „ „ Stirbt n. 48 Std.
„ 374 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ Lebt.



Maus 375 0·1 I. S. + 0·01 K. i. p. Lebt.
„ 376 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 377 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 24 Stunden.
Die Infektion wurde mit der 9. Passage vorgenommen.

Versuch XLV.

Maus 378 0·1 mit St. Arons. beh. I. S. + 0·01 K. i. p. Stirbt n. 18 Std.
„ 379 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 380 0·1 „ „ Ho. „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 381 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 382 0·1 „ „ Schmei. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 383 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 384 0·1 „ „ Rossip. „ „ + 0·01 „ „ Stirbt n. 5 Tagen.
„ 385 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 386 0·1 I. S. + 0·01 K. i. p. Lebt.
„ 387 0·05 „ + 0·01 „ „ Stirbt nach 5 Tagen.
„ 388 (Kontrolle) 0·01 „ „ „ „ 18 Stunden.
Die Infektion wurde mit der 12. Passage vorgenommen.

Versuch XLVI.

Maus 389 0·1 mit St. Rubr. beh. I. S. + 0·01 K. i. p. Lebt.
„ 390 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 391a 0·1 „ „ Psan. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 391b 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 392a 0·1 „ „ Hess „ „ + 0·01 „ „ „
„ 392b 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 393 0·1 „ „ Virid. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 394 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 395 0.1 „ „ Jir. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 396 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 397 0·1 I. S. + 0·01 K. i. p. Lebt.
„ 398 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 399 (Kontrolle) 0.01 K. i. p. Stirbt nach 14 Stunden.
„ 400 „ 0.01 „ „ „ „ 14 „
Die Infektion wurde mit der 14. Passage vorgenommen.

Versuch XLVII.

Maus 401 0·1 mit St. Arons. beh. I. S + 0·01 K. i. p. Stirbt n. 22 Std.
„ 402 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „ „ 18 „
„ 403 0·1 „ „ Vilim. „ „ + 0·01 „ „ Lebt.
„ 404 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 405 0·1 „ „ Bon. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 406 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 407 0.1 „ „ S. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 408 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 409 0·1 „ „ Jir. „ „ + 0·01 „ „ „
„ 410 0·05 „ „ „ „ „ + 0·01 „ „ „
„ 411 0·1 I. S. + 0.01 K. i. p. Lebt.
„ 412 0·05 „ + 0·01 „ „ „
„ 413 (Kontrolle) 0·01 „ „ Stirbt nach 22 Stunden.
Die Infektion wurde mit der 27. Passage vorgenommen.

Zunächst fällt in diesen Versuchen die Unregelmäßigkeit auf, daß der Stamm Jir. im ersten Versuche, der wiederholt wurde, das Immunserum seiner Schutzkraft beraubt, während er in den übrigen Versuchen (XLVI, XLVII) dies nicht vermag.[1] Wir haben, da uns dies sehr wichtig schien, noch einige Experimente, die wir hier nicht protokollarisch wiedergegeben haben, mit Stamm Jir. angestellt, jedoch niemals wieder eine Erschöpfung des Immunserums finden können.

Im übrigen zeigen aber diese Versuche mit aller Klarheit, daß kein einziger der hier untersuchten Stämme mit dem zur Herstellung des Immunserums verwendeten Originalstamm in immunisatorischer Hinsicht identisch ist. Ein eventueller Einwand, daß die Behandlung mit fremden Stämmen ungenügend bzw. die Erschöpfung unvollkommen sei, ist dadurch widerlegt, daß wir die behandelten Immunsera bis zur Wirkungsgrenze austitriert haben, so daß der geringste Schutzverlust erkennbar sein müßte, daß ferner, wie die beigefügten Kontrollen und die früheren Versuche zeigen, der Stamm Aronson und jene Stämme, welche die Schutzstoffe binden, das Immunserum leicht völlig unwirksam machen.

Sowohl vom theoretischen als auch vom praktischen Standpunkt ist das refraktäre Verhalten unserer Streptokokken dem Immunserum gegenüber von Bedeutung. Theoretisch deshalb, weil es uns zeigt, daß die Anschauung von Aronson, Marxer und anderen Autoren, daß sämtliche Streptokokkenstämme auch in immunisatorischer Beziehung sich wie eine Art verhalten, nicht zu Recht besteht. Es kann nicht geleugnet werden, daß die genannten Forscher auf Grund ihrer Experimente berechtigt waren, obigen Schluß zu ziehen, da tatsächlich ihre Stämme sich dem Immunserum gegenüber genau so verhielten wie der Originalstamm. Ein gleiches Verhalten wiesen in unseren Versuchen noch zwei Stämme anderer Provenienz auf, und zwar der Höchster und der von Piorkowski übersandte Streptococcus. Alle diese Stämme zeigten mit Ausnahme des Piorkowskischen die gemeinsamen Eigenschaften, daß sie eine hohe Virulenz besaßen und in der Bouillon gleichmäßig trüb wuchsen. Der Piorkowskische Stamm war weniger virulent und zeigte außerdem Andeutung von Flöckchenwachstum in der Bouillon. Unsere vom Menschen gezüchteten Stämme ließen ausnahmslos die Bouillon klar und bildeten einen aus Flöckchen gebildeten Bodensatz. Die hohe Virulenz der von Marxer übersandten Stämme ist nicht vielleicht eine vorübergehende durch Tier-

[1] Diese Differenz ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß im ersten Versuche eine Verwechslung des Stammes Jir. mit Stamm Aronson vorlag, da nämlich auf den Eprouvetten, welche die Kulturen enthielten, diese nur mit den Anfangsbuchstaben bezeichnet sind, so daß infolge undeutlicher Schrift Ar. für Jir. gelesen wurde.



passagen angezüchtete, sondern eine diesen Stämmen innig innewohnende Eigenschaft. Dies schließen wir daraus, daß, nachdem wir diese Streptokokken ein Jahr hindurch alle 14 Tage auf Agar überimpften und hierauf eine Virulenzprüfung vornahmen, sie sich befähigt erwiesen, in der Dosis von $^1/_{100}$ ccm Bouillonkultur in wenigen Stunden Mäuse unter dem Bilde der schwersten Sepsis zu töten. Diese übereinstimmenden Merkmale sowohl untereinander als auch mit dem Originalstamm müßten, wenn wir nicht die verschiedene Herkunft kennen würden, den Gedanken nahe legen, daß es sich bei allen diesen Stämmen nicht nur um eine einzige Art, sondern um einen einzigen Stamm handelt. Immerhin aber lehren diese Versuche, daß es einzelne Streptokokkenstämme gibt, welche, ganz gleichgültig, ob sie Menschen oder Tiere infizieren (Druse), sich immunisatorisch ganz gleich verhalten. Auf die merkwürdige Tatsache möchten wir hinweisen, daß alle diese Stämme mit Ausnahme des Höchster, dessen Herkunft wir nicht kennen, aus Berlin stammen, während unsere Prager Stämme, die wir von Sepsis und Scharlach züchteten, von ersteren völlig verschieden sind. Es wäre demnach nicht unmöglich, daß bei den Streptokokken verschiedene lokale Verhältnisse eine nicht unbedeutende Rolle spielen, deren genauere Erforschung sicherlich von Interesse wäre. Auch die in jüngster Zeit von Heimann veröffentlichten eingehenden Versuche weisen mit aller Bestimmtheit darauf hin, wie different sich die einzelnen Streptokokken verhalten, da das Aronsonsche Immunserum gegen keinen einzigen der von ihm isolierten Stämme wirksam war.

Obzwar Marxer besonders eindringlich die Arteinheit der Streptokokken lehrt, so lassen doch auch seine Experimente auf indirekte Weise den gegenteiligen Schluß gerechtfertigt erscheinen. Denn die vergleichenden Untersuchungen, die er mit verschiedenen fremden Immunsera anstellte, lehrten ihn, daß nur das Aronsonsche und das von ihm hergestellte Immunserum gegen seine sämtlichen Stämme schützte, die fremden Sera (Höchst, Piorkowski, Gans) jedoch nahezu unwirksam waren. Da aber diese Immunsera nach denselben Prinzipien hergestellt sind wie das Aronsonsche, so wäre ja nach den Vorstellungen von Marxer, daß alle Streptokokken eine einzige Art darstellen, nicht einzusehen, weshalb diese Sera nicht schützen sollten. Es ist wohl mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß diese Immunsera gegen den eigenen Stamm wirksam waren, da sie sonst sicherlich nicht ausgegeben worden wären. Es läßt dieser Mißerfolg mit den fremden Sera darauf schließen, daß zu deren Herstellung Stämme verwendet wurden, welche von dem Aronsonschen Originalstamm verschieden waren. Zu verwundern ist nur der Umstand, daß Aronson und auch Marxer keine Stämme gefunden haben, gegen welche ihr Immunserum versagte. Daß es solche gibt, gegen welche das



Immunserum auch nicht die geringste Wirkung aufweist, ist sowohl nach den Versuchen von Heimann als auch nach unseren eigenen sichergestellt. Ja es scheint, daß sogar die überwiegende Mehrzahl der Streptokokken zu diesen gehört. Daß dies praktisch sehr wichtig ist, braucht nicht erst hervorgehoben zu werden.

Wir haben noch einige Versuche angestellt, um einen Einblick zu erlangen in die Dauer der Schutzwirkung, welche das Streptokokkenimmunserum ausübt. Über die Frage, wie lange Immunkörper, die einem fremden Organismus einverleibt werden, in demselben verweilen, sind sehr zahlreiche Untersuchungen angestellt worden, deren Resultat jedoch kein einheitliches war. Die verschiedensten Umstände sind für den Ausfall derartiger Versuche maßgebend. Hierbei spielt zunächst eine wichtige Rolle der Ort der Immunkörperinjektion, ferner die Menge derselben, weiter, ob sie von einer homologen oder heterologen Tierart stammen, und schließlich die Art der Immunkörper. Hauptsächlich wurden bisher Antitoxine, Agglutinine, Bakteriolysine und Präzipitine untersucht, und soweit man aus den Versuchen ersehen kann, verhalten sich dieselben untereinander verschieden. Im ganzen kann man behaupten, daß nach 1 bis 2 Wochen von den injizierten Immunstoffen meist nichts mehr nachzuweisen war. Wir haben unsere jetzigen Versuche in der Weise durchgeführt, daß wir Mäuse mit 0·25 ccm Immunserum, der ungefähr 10fach schützenden Dosis, vorbehandelten und dann die Zeit bestimmten, nach der die Tiere einer Infektion widerstanden bzw. derselben erlagen. Wir haben in unseren obigen Versuchen gesehen, daß das Immunserum bei vorzeitiger Injektion weniger abgeschwächt ist, wenn die Infektion intraperitoneal vorgenommen wird. Dies war der Grund, weshalb wir in unseren Versuchen intraperitoneal infizierten. Da wir auch das Immunserum ins Peritoneum spritzten, so war eine Kontrolle nötig, um eine nicht spezifische Resistenz auszuschalten. Deshalb wurde die nötige Anzahl von Mäusen mit Schweinerotlaufserum, das wie das Streptokokkenimmunserum vom Pferde stammte, vorbehandelt. Diese dienten ebenso wie eine Reihe unvorbehandelter Tiere als Kontrolle.

Versuch XLVIII.

Maus 414	0·25	I. S.[1]	i. p.	Nach 48 Std.	0·01 K. i. p.	Lebt.
„ 415	0·25	„	„	„ 48 „	0·01 „ „	„
„ 416	0·25 Srl.[2]	„	„	„ 48 „	0·01 „ „	Stirbt n. 32 Std.
„ 417	0·01 K. i. p.	Stirbt nach 15 Stunden.				
„ 418	0·025	I. S.	i. p.	Nach 4 Tg.	0·01 K. i. p.	Lebt.
„ 419	0·025 Srl.	„	„	„ 4 „	0·01 „ „	Stirbt n. 20 Std.
„ 420	0·01 K. i. p.	Stirbt nach 15 Stunden.				

[1] I. S. = Streptokokken-Immunserum. [2] Srl. = Schweinerotlauf-Immunserum.



Maus 421	0·25	I.S. i.p.	Nach 6 Tg. 0·01 K. i.p. Stirbt n. 15 Std.
„ 422	0·25	Srl. „ „	„ 6 „ 0·01 „ „ „ „ 15 „
„ 423	0·01	K. i.p.	Stirbt nach 15 Stunden.
„ 424	0·25	I.S. i.p.	Nach 7 Tg. 0·01 K. i.p. Lebt. (!)
„ 425	0·25	Srl. „ „	„ 7 „ 0·01 „ „ Stirbt n. 15 Std.
„ 426	0.01	„ „	Stirbt nach 15 Stunden.
„ 427	0·1	„ + 0·01 K. i.p.	Lebt.
„ 428	0·25	I.S. i.p.	Nach 8 Tagen 0·01 K. i.p. Stirbt n. 15 Std.
„ 429	0·01	K. i.p.	Stirbt nach 15 Stunden.
„ 430	0·1	I.S. + 0·01 K. i.p.	Lebt.

Die Infektion wurde in allen Versuchen mit der 22. Passage vorgenommen.

Wir entnehmen diesen Versuchen, daß der Schutz, den das Streptokokkenimmunserum unter den günstigsten Bedingungen verleiht, nur wenige Tage währt, obwohl wir die 10fach schützende Dosis injiziert haben. Bis zu 4 Tagen ist bei der hier angewendeten Immunserummenge ein sicherer Schutz vorhanden, später ist die Wirkung schon unsicher, da nach 6 Tagen bereits eine Maus stirbt. Obwohl die am folgenden Tage infizierte Maus wieder am Leben bleibt, so ist doch nach 8 Tagen der Schutz vollkommen erloschen. Diese Ermittlungen stimmen im allgemeinen mit dem überein, was wir von der Dauer der passiven Immunität wissen. Die beigegebenen Kontrollen sagen, daß die nicht spezifische intraperitoneale Vorbehandlung nur bis zum zweiten Tage eine geringe Resistenz bewirkt, da die Maus 416 erst nach 32 Stunden stirbt, später ist jedoch von einer Lebensverlängerung der vorbehandelten Kontrollmäuse nichts mehr zu merken. Die Mäuse 427 und 430 haben wir deshalb injiziert, um zu zeigen, daß das zu diesen Versuchen verwendete Immunserum außerhalb des Tierkörpers keine Abschwächung erlitten hat.

Die bisherigen Versuche haben uns gelehrt, daß das Streptokokkenimmunserum ausschließlich den Bakteriotropinen seine Wirkung verdankt, daß Schutzstoffe anderer Art, insbesondere eine antiaggressive Komponente, die sich beim Hühnercholeraimmunserum so leicht nachweisen läßt, nicht vorhanden ist. Es wäre aber nicht unmöglich, daß dies nur an der Herstellungsweise des Aronsonschen Immunserums gelegen ist, und daß es möglicherweise gelingen könnte, durch Behandlung mit Aggressin ein antiaggressives Immunserum zu erlangen, zumal man auf diesem Wege leicht eine aktive Immunität erzeugen kann. Durch intrapleurale Infektion erhält man beim Kaninchen ohne Schwierigkeit ein bakterienreiches Exsudat, dessen Keime man durch sorgfältiges Zentrifugieren und nachheriges Sterilisieren mit Toluol entfernen kann. Mit dieser sterilen Flüssigkeit haben wir zwei Kaninchen (Kaninchen I und II) sechsmal mit je 7 ccm subkutan behandelt und hierauf das Blut auf seine Schutzkraft geprüft.



Versuch XLIX.

Maus	Nr.	Dosis	Serum	Infektion	Ergebnis
Maus	431	0·1	I. S. v. Kan. I	+ 0·01 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„	432	0·05	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	433	0.01	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	434	0·1	„ „ „ II	+ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	435	0·05	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	436	0·01	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„ „ 24 „
„	437	(Kontrolle)		0·01 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„	438	„		0·01 „ „	„ „ 24 „

Trotz der intensiven Vorbehandlung mit Aggressin ist ein Schutzeffekt der beiden Sera nicht zu ersehen. Da die antiaggressiven Schutzstoffe vorzeitig injiziert bedeutend besser wirken, und wir die Infektion gleichzeitig vorgenommen haben, so wäre es möglich, daß uns ein antiaggressiver Anteil entgangen ist. Es war demnach notwendig, das Immunserum auch bei vorzeitiger Injektion zu prüfen.

Versuch L.

Maus	Nr.	Dosis	Serum	Applikation	Infektion	Ergebnis
Maus	439	0·5	I. S. v. Kan. I	subk.	Nach 18 Std. 0.001 K. i.p.	Str. n. 24 Std.
„	440	0·3	„ „ „ „	„	„ 18 „ 0·001 „ „	„ „ 24 „
„	441	0·1	„ „ „ „	„	„ 18 „ 0·001 „ „	„ „ 24 „
„	442	0·5	„ „ „ „		+ 0.001 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„	443	0·5	„ „ „ II	subk.	Nach 18 Std. 0·001 K. i.p.	Str. n. 24 Std.
„	444	0·3	„ „ „ „	„	„ 18 „ 0·001 „ „	„ „ 24 „
„	445	0·1	„ „ „ „	„	„ 18 „ 0·001 „ „	„ „ 24 „
„	446	0·5	„ „ „ „		+ 0·001 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„	447	(Kontrolle)			0·001 K. i.p.	Stirbt nach 24 Stunden.
„	448	„			0·001 „ „	„ „ 24 „

Selbst in der hohen Dosis von 0·5 ccm ist weder bei gleichzeitiger noch bei nachträglicher Infektion irgend eine Andeutung von Schutzwirkung vorhanden.

Wir haben nach diesem Mißerfolg mit Aggressin, um ein Immunserum zu erhalten, Kaninchen I mit lebender Kultur infiziert, indem wir in Zwischenräumen von 6 Tagen 0·1, 0·5 und schließlich 1 ccm Bouillonkultur intravenös injizierten und das Serum untersuchten. Die Infektionen wurden von dem Tiere ohne merkbaren Schaden ertragen.

Versuch LI.

Maus	Nr.	Dosis	Serum	Infektion	Ergebnis
Maus	449	0·5	I. S. v. Kan. I	+ 0·01 K. i.p.	Lebt.
„	450	0·25	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„
„	451	0·1	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	„
„	452	0·01	„ „ „ „	+ 0·01 „ „	Stirbt n. $3^1/_2$ Tg.
„	453	(Kontrolle)		0·01 K. i.p.	Stirbt nach 18 Stunden.

Während das Aggressin nicht imstande war, beim Kaninchen Schutzstoffe zu erzeugen, treten dieselben sofort auf, nachdem wir lebende Streptokokken injizierten. Der Schutz, den das Serum verleiht, ist ein ziemlich hoher, denn derselbe ist gegenüber der hier gesetzten schweren Infektion in der geringen Dosis von 0·01 ^{ccm} noch deutlich ausgesprochen.

Die Tatsache, daß durch Behandlung mit Aggressin keine Schutzkraft des Serums erzielt wurde, ist deshalb von Interesse, da man ja im Aggressin Bakterienbestandteile annehmen muß, welche der allgemeinen Ansicht entsprechend die Antigene für die Opsonine darstellen. Die Opsonintherapie beruht ja darauf, durch Injektion abgetöteter Bakterien eine Ausbildung phagozytosefördernder Schutzstoffe anzuregen. Wenn nun beim Streptococcus die tote Leibessubstanz hierzu nicht befähigt ist, so wäre dies theoretisch und praktisch von Wichtigkeit und einer genaueren Untersuchung wert. Da nach unseren Versuchen ein wirksames Immunserum leicht entsteht, wenn wir lebende vermehrungsfähige Streptokokken injizieren, so wäre es nicht ausgeschlossen, daß das Leben oder die Vermehrung der Streptokokken notwendig ist bzw. das ausschlaggebende Moment für die Ausbildung der Schutzstoffe darstellt. Es konnte leicht experimentell geprüft werden, ob sich die immunkörpererzeugende Fähigkeit der lebenden und toten Streptokokken in der Tat so different verhält wie es nach den Immunisierungsversuchen mit Aggressin den Anschein hat.

Wir haben zu dem Zwecke 3 Kaninchen tote und einem lebende Streptokokken intravenös injiziert. Estere erhielten den Bodensatz von je 200 ^{ccm} üppig gewachsener Serumbouillonkultur, und zwar wurde das Vakzin für das eine Kaninchen bei 60°, für die beiden anderen, um möglichst schonend vorzugehen, durch Toluolsterilisierung hergestellt. Sämtliche Tiere vertrugen die Infektion so großer Bakterienmassen anstandslos. Das Kaninchen, welches mit lebenden Keimen behandelt wurde, bekam 0·1 ^{ccm} intravenös und wies folgenden Befund auf.

Kaninchen 1800 ^{grm} 0·1 ^{ccm} Bouillonkultur, intravenös.

Nach	5	Minuten:	3000	Kolonien	in	2 ^{ccm}	Blut.
„	$1^1/_2$	Stunden:	3	„	„	2 „	„
„	24	„	420	„	„	2 „	„
„	2	Tagen:	184	„	„	2 „	„
„	4	„	67	„	„	2 „	„
„	10	„	0	„	„	2 „	„

Nach 10 Tagen wurden sowohl dem mit toten als auch dem mit lebenden Bakterien behandelten Kaninchen Blut entnommen, und seine Schutzkraft an Mäusen geprüft. Der Übersichtlichkeit halber nennen wir Kaninchen A jenes, welches wir bei 60°, B und C jene, welche wir



mit Toluol behandelten, und D, welches mit lebenden Streptokokken immunisiert wurde.

Versuch LII.

Maus	454	0·5	I.S.	Kan.	A	+ 0·01	K.	i.p	Stirbt	nach	24	Stunden.
„	455	0·25	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	456	0·1	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	457	0·5	„	„	B	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	458	0·25	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	459	0·1	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	460	0·5	„	„	C	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	461	0·25	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	462	0·1	„	„	„	+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	463	0·5	„	„	D	+ 0·01	„	„	Lebt.			
„	464	0·25	„	„	„	+ 0·01	„	„	„			
„	465	0·1	„	„	„	+ 0·01	„	„	„			
„	466	0·5	norm.	Serum		+ 0·01	„	„	Stirbt	nach	24	Stunden.
„	467	0·25	„	„		+ 0·01	„	„	„	„	24	„
„	468	0·1	„	„		+ 0·01	„	„	„	„	24	„

Das Resultat dieses Versuches ist vollkommen eindeutig. Es beweist, daß nur jenes Kaninchen, welches mit lebenden Streptokokken behandelt worden war, Immunstoffe gebildet hatte, während die andern Tiere eine Schutzwirkung in ihrem Serum nicht erkennen lassen.

Es fragt sich nun, ob hier eine qualitative oder eine quantitative Differenz vorliegt, quantitativ in dem Sinne, daß man annehmen könnte, die Infektion mit lebenden Bakterien hätte zu einer derartigen Vermehrung geführt, daß dadurch die Menge der injizierten abgetöteten Streptokokken übertroffen wäre; dies trifft jedoch, wie der Befund bei dem betreffenden Kaninchen zeigt, nicht zu, denn abgesehen von der bis zu 24 Stunden auftretenden geringgradigen Vermehrung ist eine stetige Abnahme der Keime zu konstatieren, sodaß man mit Sicherheit annehmen kann, daß die Mengen der lebenden Streptokokken um das Mehrhundertfache geringer ist als die der abgetöteten. Nun wissen wir aber durch die Untersuchungen von Friedberger, daß bakterizide Antikörper durch Einverleibung ganz geringer Mengen abgetöteter Bakterien ($^1/_{10}$ bis $^1/_{100}$ Öse) entstehen, ja daß die Injektion größerer Dosen oder lebender Bakterien gar keine Vorteile bringt. Es würde also die Bildung bakterizider Antikörper, wenn die hier festgestellte Tatsache allgemeine Gültigkeit hat, auf ganz andere Bedingungen hin erfolgen, als die bakteriotroper. Letztere wäre abhängig entweder von einer ganz besonderen Substanz, die in größerer Menge nur von den lebenden Streptokokken produziert wird, oder von einem spezifischen Reiz, den in erster Linie nur die lebenden



Bakterien auf den Organismus ausüben. Spielen zwar die beiden erwähnten Umstände bei den bakteriziden Immunkörpern sicherlich keine wesentliche Rolle, so liegen schon die Verhältnisse ganz anders bei den antiaggressiven Immunstoffen. So gelingt es bekanntlich nicht, auch mit noch so großen Mengen abgetöteter Milzbrand- oder Schweinerotlauf-Bazillen ein Immunserum zu erzeugen, und auch bei Hühnercholera muß man ungeheuere Massen toter Bakterien oftmals injizieren, um ein Immunserum zu erzielen, welches eine eben noch merkbare Schutzwirkung gegen einen virulenten Stamm ausübt. In den drei genannten Fällen gelingt es jedoch leicht entweder mit abgeschwächten lebenden Bakterien oder mit einem Produkt der lebenden Bakterien, dem Aggressin, ein hochwirksames Immunserum zu erzeugen. Wenn sich nun hier die Verhältnisse ähnlich wie bei Hühnercholera verhalten, so müßte man durch die mehrmalige Injektion großer Massen abgetöteter Streptokokken ein wirksames Immunserum erhalten, da auch in den toten Bakterien jene Stoffe, welche von den lebenden erzeugt werden, oder mittels welchen diese einen Reiz auf den Organismus ausüben, in geringer Menge enthalten sein müssen. Wir haben deshalb zwei Kaninchen dreimal mit dem Bodensatz von je 200 ccm Bouillonkultur intravenös behandelt und beiden 9 Tage nach der letzten Injektion Blut entnommen. Die beiden Kaninchen sind in dem nachfolgenden Versuchsprotokoll mit E und F bezeichnet.

Versuch LIII.

Maus	469	0·5	I. S. Kan.	E	+ 0·01	K.	i.p.	Lebt.	
„	470	0·25	„ „	„	+ 0·01	„	„	„	
„	471	0·1	„ „	„	+ 0·01	„	„	„	
„	472	0·5	„ „	F	+ 0.01	„	„	„	
„	473	0·25	„ „	„	+ 0·01	„	„	„	
„	474	0·1	„ „	„	+ 0·01	„	„	„	
„	475	0.5	norm. Serum		+ 0·01	„	„	Stirbt nach	18 Stunden.
„	476	0·25	„ „		+ 0·01	„	„	„ „	18 „
„	477	0·1	„ „		+ 0·01	„	„	„ „	18 „

Da nun, wie man aus dem vorangehenden Versuche ersieht, auch die toten Streptokokken zur Immunkörperbildung befähigt sind, so ist die Differenz zwischen ihnen und den lebenden nur eine quantitative. Diese ist jedoch eine ganz bedeutende, da die Menge der lebenden Bakterien, welche für die Immunkörpererzeugung nötig ist, verschwindend klein ist im Vergleich zu der Menge der abgetöteten, da ja die Streptokokken bei dem mit lebenden Bakterien infizierten Kaninchen, wie der betreffende Versuch zeigt, nur eine ganz geringgradige Vermehrung erfahren haben. Man muß also annehmen, daß die antigenen Stoffe in den toten Streptokokken nur in minimalen Mengen enthalten sind. Wenn dies nicht nur



für den hier angewendeten Streptococcus, sondern auch für alle übrigen Giltigkeit hat, so würde diese Tatsache ein Licht darauf werfen, warum ein mit so vielen verschiedenen Stämmen hergestelltes Immunserum wie das Aronsonsche nur einen einzigen nachweisbar wirksamen Immunkörper besitzt. Dies wäre auf folgende Weise zu erklären:

Wenn man nämlich die Behandlung der Tiere mit völlig avirulenten Stämmen vornimmt, so werden dieselben, ohne eine Vermehrung zu erfahren oder eine Reaktion auszuüben, sofort abgetötet und werden sich ähnlich verhalten, wie Streptokokken, die von vorherein abgetötet injiziert wurden. Diese Stämme würden dann im Tier eine Antikörperbildung nicht auslösen. Da nun die größte Mehrzahl der direkt vom Menschen gezüchteten Streptokokkenstämme für kleinere Tiere und noch viel mehr für Pferde avirulent sind, so werden sie sich wahrscheinlich gar nicht vermehren und sehr rasch abgetötet werden; da jene Stämme jedoch, welche sich wie der Aronsonsche Stamm verhalten, d. h. für die meisten Tiere pathogen sind, nach unseren Erfahrungen zu den Seltenheiten gehören, so ist die Ausnahmestellung dieses Stammes hinsichtlich der Immunisierung wohl zu verstehen.

Um den allerdings schon auf Grund unserer früheren Versuche widerlegten Einwand, die Wirkung des Aronsonschen Immunserums auf unsere fremden Stämme sei durch seine Polyvalenz bedingt, vollkommen zu entkräften, haben wir noch eine Versuchsreihe mit unserm Immunserum von Kaninchen I angestellt.

Versuch LIV.

Maus	454	0·5	I. S. Kan. I	+ 0·01	K. v. Str.	6	i.p.	Lebt.
„	455	0·25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	6	„	„
„	456	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	6	„	„
„	457	0·5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „	6	„	Stirbt n. 18 Std.
„	458			0·01	„ „ „	6	„	„ „ 18 „
„	459	0·5	I. S. Kan. I	+ 0·01	„ „ „	7	„	Lebt.
„	460	0·25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	7	„	„
„	461	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	7	„	„
„	462	0·5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „	7	„	Stirbt n. 18 Std.
„	463			0·01	„ „ „	7	„	„ „ 18 „
„	464	0·5	I. S. Kan. I	+ 0·01	„ „ „	8	„	Lebt.
„	465	0.25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	8	„	„
„	466	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	8	„	Stirbt n. 5 Tagen.
„	467	0·5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „	8	„	„ „ 18 Std.
„	468			0·01	„ „ „	8	„	„ „ 18 „
„	469	0.5	I. S. Kan. I	+ 0·01	„ „ „	21	„	Lebt.
„	470	0·25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	21	„	„
„	471	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „	21	„	„
„	472	0·5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „	21	„	Stirbt n. 24 Std.
„	473			0·01	„ „ „	21	„	„ „ 32 „



Maus	474	0·5	I.S. Kan. I	+ 0·01	K. v. Str. 36	i.p.	Lebt.
„	475	0·25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „ 36	„	„
„	476	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „ 36	„	Stirbt n. 4 Tagen.
„	477	0.5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „ 36	„	„ „ 18 Std.
„	478			0·01	„ „ „ 36	„	„ „ 18 „
„	479	0·5	I.S. Kan. I	+ 0·01	„ „ „ H.	„	Lebt.
„	480	0·25	„ „ „	+ 0·01	„ „ „ „	„	„
„	481	0·1	„ „ „	+ 0·01	„ „ „ „	„	Stirbt n. 5 Tagen.
„	482	0.5	norm. Serum	+ 0·01	„ „ „ „	„	„ „ 32 Std.
„	483			0·01	„ „ „ „	„	„ „ 34 „

Stamm Piorkowski hatte seine Virulenz insoweit eingebüßt, daß er in der Dosis von 0·1 nicht tötete, so daß der Schutzwert des Serums gegen diesen Stamm nicht geprüft wurde.

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß sich unser Kaninchenimmunserum genau so verhält wie das Aronsonsche, daß es gegen alle jene Stämme schützt, gegen die das Aronsonsche Immunserum die Infektion verhindert hat. Dies ist ein weiterer Beweis dafür, daß letzteres nicht infolge seiner polyvalenten Herstellungsweise gegen die fremden Stämme gewirkt hat, da ja unser Immunserum nur mit dem Aronsonschen Stamm erzeugt wurde.

Nachdem wir auf Grund der bisherigen Versuche über die Wirkungsweise des Streptokokkenimmunserums Aufschluß erlangt haben, ist es nun von Interesse, die Chancen zu bestimmen, welche dieses Heilserum besitzt, eine Streptokokkeninfektion des Menschen zu bekämpfen. Es ist nicht zu leugnen und auch von allen Untersuchern anerkannt worden, daß das Aronsonsche Serum gegen gewisse Stämme sehr wirksam ist, da es nicht nur eine Infektion mit einer großen Bakterienmenge verhindert, sondern auch eine bereits sehr weit fortgeschrittene Bakterienvermehrung zu unterdrücken vermag. Für die Schutz- bzw. Heilwirkung des Streptokokkenimmunserums sind jedoch zwei Momente besonders in Betracht zu ziehen, weil sie in praktischer Hinsicht für die Beurteilung der Wirkung beim Menschen von Wichtigkeit sind, erstens der Umstand, daß das Immunserum nicht gegen alle Stämme schützt, und zweitens, daß die meisten bisherigen Versuche bei Mäusen angestellt wurden. Ersteres ist deshalb von praktischer Bedeutung, weil man ja nicht annehmen kann, daß alle menschlichen Streptokokkeninfektionen durch einen mit dem Aronsonschen Stamm identischen Streptococcus hervorgerufen wurden, und letzteres deshalb, weil man die Frage aufwerfen muß, ob die Infektion bei der Maus mit der des Menschen irgend welche Ähnlichkeit besitzt. Was den ersten Punkt betrifft, so haben Aronson und auch Marxer bei Infektionen des



Menschen Stämme gezüchtet, welche in immunisatorischer Hinsicht mit dem Originalstamm vollkommen identisch waren, andere Autoren hingegen, so Heymann und wir selbst, konnten vom Menschen nur Stämme züchten, welche vom Aronsonschen Immunserum gar nicht beeinflußt wurden, obwohl dieses ja als polyvalentes Immunserum mit vielen verschiedenen Stämmen hergestellt ist. Es ist einleuchtend, daß das Versagen des Immunserums gegen fremde Stämme nicht zu großen Hoffnungen für eine erfolgreiche Anwendung beim Menschen berechtigt. Trotzdem aber dürfte man allein deshalb eine therapeutische Verwendung beim Menschen nicht von vornherein ablehnen, da es immerhin möglich wäre, daß ein oder das anderemal eine Infektion mit einem Stamme erfolgt ist, gegen welchen das Immunserum wenigstens im Tierversuch schützt. Was in einem solchen Falle das Immunserum beim Menschen leisten kann, wollen wir im nachfolgenden zu entscheiden versuchen.

Wir müssen hierbei an die oben aufgeworfene zweite Frage anknüpfen, ob die Streptokokkeninfektion bei der Maus mit der des Menschen irgend welche Ähnlichkeit besitzt, oder ob man in die Lage versetzt wird, das Immunserum beim Menschen unter Bedingungen anzuwenden, unter welchen es bei der Maus wirkt.

Wenn man nämlich die Leistungsfähigkeit eines Streptokokkenimmunserums bei diesem Tiere prüfen will, so geschieht dies in der Weise, daß wir eine Infektion setzen, welche das unbehandelte Tier binnen wenigen Stunden unter dem Bilde der schwersten Sepsis tötet. Gegen diese Infektion muß sich das Immunserum wirksam erweisen in der Art, daß es die Bakterienvermehrung unterdrückt und das Tier vor dem Tode bewahrt. Es fragt sich nun, ob die Infektionsverhältnisse beim Menschen ähnlich liegen, ob auch stets eine Vermehrung der Keime im Blute nachweisbar ist bei jenen Fällen, welche infolge einer Streptokokkeninfektion mehr oder weniger schwer erkranken. Diese Verhältnisse, sicherlich von großem infektionstheoretischen Interesse, sind bisher systematisch nicht untersucht; doch besitzen wir durch das Entgegenkommen der hiesigen Frauenklinik, welche uns mehrere Fälle zu untersuchen Gelegenheit bot, einige Erfahrungen darüber, wie sich die Streptokokken im Blute des Menschen verhalten. Wir konnten dabei konstatieren, daß die Infektionsverhältnisse beim Menschen, der an einer Infektion mit aeroben Streptokokken erkrankt ist, fast vollkommen denen gleichen, die wir am Kaninchen festgestellt haben. Wenn man dieses Tier mit mehreren verschiedenen Streptokokkenstämmen intravenös infiziert, so kann man sehr scharf drei verschiedene Infektionstypen unterscheiden. Der Typus I ist dadurch charakterisiert, daß die ins Blut gespritzten Keime rasch aus dem Blute dauernd verschwinden. Bei Typus II kommt es zu einer anfänglichen,



am besten nach $1^1/_2$ Stunden zu konstatierenden starken Keimverminderung, an welche sich eine bis zu 24 Stunden anhaltende Vermehrung anschließt; nach dieser Zeit steht die Vermehrung still, die Streptokokken nehmen langsam ab, so daß sie nach ungefähr einer Woche in der Blutmenge von 2^{ccm} nicht mehr nachweisbar sind. Typus III verhält sich bis zu 24 Stunden im Prinzip wie Typus II, nur mit dem Unterschied, daß die anfängliche Verminderung meist geringer, die darauf folgende Vermehrung meist stärker ausgesprochen ist. Nach 24 Stunden tritt jedoch nicht ein Stillstand in der Keimzunahme ein, sondern diese schreitet fort, so daß das Tier derselben binnen 2 bis 3 Tagen erliegt. Während diejenigen Tiere, bei welchen die Infektion nach Typus I erfolgt ist, meist ohne merkliche Krankheitserscheinungen am Leben bleiben, weisen die Tiere nach Typus II stets eine schwere Erkrankung auf, starke Abmagerung, Diarrhöen, Lähmungen, so daß in den allermeisten Fällen nach 1 bis 2 Wochen der Tod eintritt. Meist sind Streptokokken weder im Blute noch in den Organen der gestorbenen Kaninchen zu finden; nur ausnahmsweise gelangt ein interessantes Phänomen zur Beobachtung, indem kurz vor dem Tode, wenn noch Bakterien im Blute kreisen, diese sich stark vermehren, so daß es den Anschein hat, als ob der Tod durch eine nachträglich erfolgte septische Infektion bedingt wäre. Es ist jedoch klar, daß diese Infektion an dem Tode keine Schuld trägt, sondern daß hier eine agonale Erscheinung vorliegt, die nur so gedeutet werden kann, daß jene Kräfte, welche beim lebenden Tier die Vermehrung der Streptokokken aufgehalten haben, beim sterbenden Tiere erlöschen. Wir haben in unserer früheren Untersuchung darauf hingewiesen, daß weder Serum- noch Leukozytenwirkung bei der Wachstumshemmung im Blute des lebenden Kaninchens eine Rolle spielen können, sondern daß hierfür eine bisher unbekannte Reaktion verantwortlich gemacht werden muß, welche weder im Reagensglas, noch im toten Tiere nachweisbar ist.

Die Streptokokkeninfektion des Menschen tritt nun, wie wir uns überzeugen konnten, unter ganz ähnlichen Bildern auf, wie die des Kaninchens, insbesondere was die Vorgänge im Blute betrifft. So finden wir bei der Infektion mit aeroben Streptokokken in der Mehrzahl der Fälle in mehreren Kubikzentimetern Blut gar keine oder nur vereinzelte Kolonien, und diese gehen, wenn der Lokalaffekt (Peritonitis, Endometritis) der erfolgreichen Behandlung zugänglich ist, in kurzer Zeit in Heilung über (Typus I). Bei andern Kranken findet man durch längere Zeit hindurch Streptokokken in allerdings nur geringer Menge (20 bis 100 Kolonien im Kubikzentimeter) im Blute. Auch bei dieser Erkrankung, die allerdings schon schwererer Natur ist, erfolgt oft nach längerer Dauer Heilung (Typus II). Nur sehr selten kommt es vor, daß eine wirkliche Sepsis, d. i. eine starke



aktive Vermehrung der Streptokokken im Blute, zur Beobachtung gelangt. Wir finden dann bei relativem Wohlbefinden eine große Bakterienmenge im Blute, die von Stunde zu Stunde zunimmt und den Tod binnen wenigen Tagen herbeiführt (Typus III). Es sei hier darauf hingewiesen, daß es nicht angängig ist, eine im Leichenblute gefundene Bakterienmenge auf intravitale Vorgänge zurückzuführen; denn auch beim Menschen kann man manchmal beobachten, daß die im Blute in geringer Menge vorhandenen Streptokokken wenige Stunden vor dem Tode eine starke Vermehrung erfahren, die bis zum Tode anhält. Der Tod ist jedoch durch diese Vermehrung nicht bedingt, sondern es handelt sich hier ebenso wie beim Kaninchen um ein agonales Phänomen.

Was die Häufigkeit der verschiedenen Infektionstypen beim Menschen betrifft, so ist Typus III glücklicherweise der seltenste, der zur Beobachtung bzw. zur bakteriologischen Untersuchung gelangt; am häufigsten ist Typus II, da die Krankheitserscheinungen bei Typus I meist so geringe sind, daß die Notwendigkeit einer bakteriologischen Untersuchung meist nicht vorliegt.

Infolge der hier geschilderten weitgehenden Übereinstimmung der Streptokokkeninfektion bei Kaninchen und Mensch hielten wir es für angezeigt, die Immunitätsverhältnisse bei diesem Tiere genauer zu prüfen, weil es berechtigt erscheinen dürfte, aus den dabei gewonnenen Resultaten einen Rückschluß auf die menschliche Streptokokkeninfektion zu ziehen.

Die Versuche, die wir im nachfolgenden beschreiben, wurden mit acht Stämmen angestellt, gegen die, wie wir von den Mäuseversuchen her wissen, das Immunserum ebenso wie gegen den Originalstamm schützte. Wichtig war einerseits die Ermittelung der richtigen Infektionsdosis, andrerseits die Menge des anzuwendenden Immunserums. Da es angezeigt erschien, um die Wirkung des Immunserums recht scharf hervortreten zu lassen, die Infektion nicht zu stürmisch zu gestalten, so haben wir diese Versuche mit den nicht durch Kaninchen passierten Stämmen durchgeführt. In Vorversuchen haben wir ermittelt, daß sich sämtliche Stämme, mit Ausnahme des Piorkowskischen, der nahezu avirulent war, annähernd gleich verhielten, indem 1 ccm Bouillonkultur die Grenzdosis darstellte, welcher größere Tiere meist nach 3 bis 4 Tagen unter allerdings nicht zu starker Bakterienvermehrung erlagen (Typus III). Öfters wurde auch der Typus II bei dieser Infektionsdosis beobachtet. Immunserum wurde in allen Versuchen in der Dosis von 2 ccm injiziert. Infektion und Immunisierung erfolgten intravenös. Genau so wie in der früheren Untersuchung wurde zu verschiedenen Zeitabschnitten aus der Jugularvene Blut entnommen, um über den Fortgang der Infektion Aufschluß zu erlangen. Bezüglich der genaueren Technik der bakteriologischen Blutuntersuchung



müssen wir auf unsere frühere Publikation verweisen. Beifolgend geben wir einen Versuch mit dem Originalstamm Aronson wieder.

Versuch LV.

Kaninchen 1. 2400 grm. 1 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach	5 Minuten	6000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	1 1/2 Stunden	52	„	„	2 „	„
„	8 „	752	„	„	2 „	„
„	24 „	984	„	„	2 „	„
„	3 Tagen	45	„	„	2 „	„
„	6 „	5	„	„	2 „	„

Stirbt nach 13 Tagen, hochgradig abgemagert, im Blut und in den Organen sind kulturell keine Bakterien zu finden.

Kaninchen 2. 2400 grm. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm Immunserum intravenös.

Nach	5 Minuten	6000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	1 1/2 Stunden	31	„	„	2 „	„
„	8 „	568	„	„	2 „	„
„	24 „	602	„	„	2 „	„
„	3 Tagen	82	„	„	2 „	„
„	6 „	0	„	„	2 „	„

Ist ebenfalls sehr stark abgemagert; es tritt jedoch langsam Erholung ein, so daß das Tier schließlich am Leben bleibt.

Wenn wir zunächst den Infektionsverlauf beim Kontrolltier betrachten, so sehen wir, daß hier Typus II vorliegt (rasches Absinken der injizierten Keime, Anstieg bis zu 24 Stunden, langsamer allmählicher Abfall). Was das Immuntier betrifft, so ist eine Beeinflussung des Infektionsverlaufes durch das Immunserum nicht zu konstatieren, da das Infektionsbild in keiner Weise gegenüber dem Kontrolltiere geändert erscheint. Die einzige Differenz besteht darin, daß das Immuntier am Leben bleibt. Daraus jedoch auf eine entgiftende Fähigkeit des Immunserums zu schließen, wäre nicht berechtigt; denn auch das Immuntier zeigt eine starke Abmagerung und ist, wie dies auch zuweilen bei unbehandelten Tieren vorkommt, mit dem Leben gerade davongekommen. Der folgende Versuch wurde mit Stamm 8 angestellt.

Versuch LVI.

Kaninchen 3. 2000 grm. 1 ccm Bouillonkultur. Stamm 8 intravenös.

Nach	5 Minuten	35000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	1 1/2 Stunden	15000	„	„	2 „	„
„	8 „	9000	„	„	2 „	„
„	24 „	30000	„	„	2 „	„
„	2 Tagen	80000	„	„	2 „	„

Stirbt nach 52 Stunden mit unendlich vielen Bakterien auf der Platte, die schon mikroskopisch im Blute zu sehen sind.



Kaninchen 4. 2100 grm. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	8000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„	1½ Stunden	23	„ „	2 „ „
„	8 „	354	„ „	2 „ „
„	24 „	416	„ „	2 „ „
„	3 Tagen	11	„ „	2 „ „

Stirbt nach 13 Tagen, hochgradig abgemagert; weder im Blute noch in der Leber und Milz kulturell Bakterien nachzuweisen.

Die Infektion des Kontrolltieres ist nach Typus III erfolgt, indem nach anfänglicher, allerdings nur geringer Abnahme eine ziemlich rapide Vermehrung erfolgt, welche nach 52 Stunden das Kaninchen septisch tötet. Hier sehen wir jedoch beim Immuntier einen sehr starken Effekt, der zunächst darin besteht, daß die anfängliche Keimabnahme eine sehr starke ist, die bereits nach 5 Minuten zu merken ist. Die nun folgende Vermehrung ist nur gering, sistiert nach 24 Stunden und macht einer allmählichen Keimverminderung Platz. Wir sehen also beim Immuntier den Typus II vollkommen charakteristisch ausgebildet. Die Wirkung des Immunserums besteht also darin, daß die akute Infektion (Typus III) in eine chronische (Typus II) umgewandelt wird. Hand in Hand mit dem chronischen Verlauf bildet sich die charakteristische Erkrankung aus, welcher auch das Tier in 2 Wochen erliegt. Obgleich das Immunserum die Infektion sehr milde gestaltet hat, war es doch nicht imstande, die Vergiftung zu verhindern.

Versuch LVII.

Kaninchen 5. 1 ccm Bouillonkultur Stamm 21 intravenös.

Nach	5 Minuten	25 000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„	1½ Stunden	480	„ „	2 „ „
„	8 „	6 000	„ „	2 „ „
„	24 „	50 000	„ „	2 „ „

Stirbt nach 30 Stunden mit unzählbar vielen Keimen auf der Platte, die auch schon mikroskopisch im Blute zu sehen sind.

Kaninchen 6. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	25 000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„	1½ Stunden	51	„ „	2 „ „
„	8 „	1 194	„ „	2 „ „
„	24 „	1 088	„ „	2 „ „
„	3 Tagen	248	„ „	2 „ „
„	5 „	22	„ „	2 „ „
„	8 „	0	„ „	2 „ „

Stirbt nach 8 Tagen, zum Skelett abgemagert, mit 516 Kolonien in 2 ccm Blut.

Fast vollkommen übereinstimmend mit dem vorangehenden ist der mit Stamm 21 ausgeführte Versuch. Auch hier hat das Immunserum die akute Infektion hintangehalten, ohne daß es die Vergiftung zu verhüten vermochte. Die im gestorbenen Tiere gefundene geringe Bakterienmenge ist wohl auf jene mehrfach erwähnte agonale Vermehrung zurückzuführen, da bereits nach 5 Tagen Bakterien in 2 ccm Blut nicht mehr nachzuweisen waren.

Versuch LVIII.

Kaninchen 7. 1 ccm Bouillonkultur Stamm 6 intravenös.

Nach	5 Minuten	8 000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„	1 1/2 Stunden	1 048	„ „	2 „ „
„	7 „	18 000	„ „	2 „ „
„	24 „	15 000	„ „	2 „ „

Stirbt nach 48 Stunden mit mikroskopisch massenhaften Kokken und kulturell unzählbaren Kolonien.

Kaninchen 8. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	12 000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„	1 1/2 Stunden	416	„ „	2 „ „
„	7 „	2 100	„ „	2 „ „
„	24 „	2 500	„ „	2 „ „
„	3 Tagen	212	„ „	2 „ „

Stirbt nach 81 Stunden mit 2528 Kolonien in 2 ccm Blut.

Im Prinzip übereinstimmend mit dem früheren ist auch dieser Versuch. Nur ist die Wirkung des Immunserums gegen Stamm 8 nicht so stark ausgesprochen, was auch der Grund ist, daß das Immuntier nach bedeutend kürzerer Zeit als in den früheren Versuchen, allerdings nicht mit septischer Infektion stirbt.

Versuch LIX.

Kaninchen 9. 2400 grm. 1 ccm Bouillonkultur Stamm 7 intravenös.

Nach	5 Minuten	15 000	Kolonien in	2 ccm Blut	38°.
„	1 1/2 Stunden	15 000	„ „	2 „ „	
„	8 „	25 000	„ „	2 „ „	
„	24 „	150 000	„ „	2 „ „	38·2°.

Stirbt nach 32 Stunden mit stärkster Sepsis.

Kaninchen 10. 2650 grm. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	15 000	Kolonien in	2 ccm Blut	38·5°.
„	1 1/2 Stunden	14	„ „	2 „ „	
„	8 „	608	„ „	2 „ „	
„	24 „	2272	„ „	2 „ „	37·2°.
„	48 „	2144	„ „	2 „ „	39°.

Stirbt nach 4 Tagen, mikroskopisch vereinzelte Kokken sichtbar, auf der Platte 500 000 Kolonien.

Noch schwächer, trotzdem aber deutlich ausgesprochen, ist die Schutzkraft des Immunserums in diesem Versuche, indem die Bakterienvermehrung nicht vollkommen unterdrückt, und der Tod nur um einige Tage hinausgeschoben wird.

Versuch LX.

Kaninchen 11. 2500 grm. 1 ccm Bouillonkultur Stamm Höchst intravenös.

Nach 5 Minuten	4000	Kolonien in 2 ccm Blut.	
„ 1 1/2 Stunden	113	„ „ 2 „ „	
„ 8 „	6	„ „ 2 „ „	37·5°.
„ 24 „	1800	„ „ 2 „ „	39·5°.
„ 2 1/2 Tagen	416	„ „ 2 „ „	38·8°.
„ 5 „	54	„ „ 2 „ „	36·9°.
„ 10 „	63	„ „ 2 „ „	

Stirbt nach 12 Tagen marantisch, weder im Blute noch in Leber und Milz sind Streptokokken zu finden.

Kaninchen 12. 2600 grm. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach 5 Minuten	10000	Kolonien in 2 ccm Blut.	
„ 1 1/2 Stunden	31	„ „ 2 „ „	
„ 8 „	52	„ „ 2 „ „	39·5°.
„ 24 „	2200	„ „ 2 „ „	38·5°.
„ 2 1/2 Tagen	1594	„ „ 2 „ „	38°.
„ 5 „	114	„ „ 2 „ „	37°.
„ 10 „	1	„ „ 2 „ „	

Ist ebenfalls nach 10 Tagen stark abgemagert, bleibt jedoch am Leben.

Das Ergebnis dieses Versuches ist fast vollkommen identisch mit Versuch LV. Hier wie dort ist eine wesentliche antibakterielle Wirkung des Immunserums nicht zu konstatieren, und auch das Überleben des Immuntieres ist sicherlich nur auf einen Zufall zurückzuführen.

Versuch LXI.

Kaninchen 13. 1 ccm Bouillonkultur Stamm 36 intravenös.

Nach 5 Minuten	6000	Kolonien in 2 ccm Blut.
„ 1 1/2 Stunden	12	„ „ 2 „ „
„ 8 „	61	„ „ 2 „ „
„ 24 „	820	„ „ 2 „ „
„ 48 „	1022	„ „ 2 „ „
„ 4 Tagen	234	„ „ 2 „ „

Stirbt, hochgradig abgemagert nach 10 Tagen mit sterilem Befund in Blut und Organen.

Kaninchen 14. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	800	Kolonien	in	2 ccm Blut.
„	1 1/2 Stunden	0	„	„	2 „ „
„	8 „	18	„	„	2 „ „
„	24 „	176	„	„	2 „ „
„	48 „	103	„	„	2 „ „
„	4 Tagen	26	„	„	2 „ „

Stirbt nach 12 Tagen mit demselben Befunde wie das Kontrolltier.

Eine Wirkung des Immunserums ist auch in diesem Versuche nicht zu erkennen, weder in bezug auf den Infektionsverlauf noch auf die Verhinderung der Vergiftung.

Schließlich führen wir noch einen Versuch mit dem Piorkowskischen Stamm an, der für Kaninchen fast völlig avirulent ist.

Versuch LXII.

Kaninchen 15. 1 ccm Bouillonkultur Stamm Piorkowski intravenös.

Nach	5 Minuten	4000	Kolonien	in	2 ccm Blut.
„	1 1/2 Stunden	1	„	„	2 „ „
„	8 „	0	„	„	2 „ „
„	24 „	78	„	„	2 „ „
„	48 „	0	„	„	2 „ „

Kaninchen 16. 1 ccm Bouillonkultur + 2 ccm I. S. intravenös.

Nach	5 Minuten	4000	Kulturen	in	2 ccm Blut.
„	1 1/2 Stunden	0	„	„	2 „ „
„	8 „	0	„	„	2 „ „
„	24 „	0	„	„	2 „ „
„	48 „	0	„	„	2 „ „

Beide Tiere bleiben, ohne irgend welche Krankheitszeichen zu zeigen, am Leben.

Wir haben hier eine Infektion nach dem Typus I vor uns, indem die injizierten Bakterien nach kurzer Zeit verschwinden, um nur beim Kontrolltier in geringer Zahl wieder zu erscheinen (Andeutung von Typus II). Beim Immuntier bleibt das Blut dauernd steril. Beide Tiere bleiben am Leben, die einzigen, welche keine Symptome von Vergiftung aufgewiesen haben.

Weitere Versuche wurden angestellt, um zu eruieren, wie das Immunserum bei bereits infizierten Kaninchen wirkt. Daß dasselbe bei Mäusen eine außerordentliche Heilkraft besitzt, ist sowohl durch die Versuche Aronsons, als auch die zahlreicher anderer Autoren sichergestellt. Die Durchführung dieser Experimente beim Kaninchen hat den Vorteil, daß wir genau beobachten können, wie sich unter dem Einflusse des Immunserums die Streptokokken, die bereits im Blute vorhanden sind, verhalten. Dabei ist es jedoch nötig, die Infektionsbedingungen so zu wählen, daß



das Immunserum sowohl bei akuter Sepsis, als auch bei chronischem Verlaufe der Infektion zur Anwendung gelangt. Besonders letzteres erscheint wichtig, da die meisten Infektionen beim Menschen, die der Behandlung zugängig sind, chronischen Verlauf aufweisen. Da man bei der von uns angewendeten Infektionsdosis von 1 bis 2^{ccm} Bouillonkultur nie mit Sicherheit voraussagen kann, ob die Infektion septisch oder chronisch verläuft, so können die Voraussetzungen, unter welchen das Immunserum angewendet wird, nicht vorausbestimmt werden, zumal wir das Immunserum stets nach 24 Stunden verabreichten, zu welcher Zeit wir auch noch nicht bestimmt den Verlauf der Infektion wissen. Dieser ist oft ein so wechselnder, daß von mehreren Tieren, welche mit derselben Menge infiziert werden, die Infektion bei dem einen nach dem Typus II, bei dem anderen nach dem Typus III verläuft. Ja es kommt auch manchmal vor, daß eine geringere Infektionsdosis, septisch eine höhere, doch chronisch tötet. Es spielt also gerade bei der intravenösen Streptokokkeninfektion des Kaninchens die verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Individuen eine bedeutende Rolle. Wir werden jedoch sehen, daß diese Momente weder das Ergebnis unserer nachfolgenden Versuche, noch die Schlüsse, die wir daraus auf die Infektion des Menschen ziehen, irgend wie beeinträchtigten. Die nachfolgenden Versuche wurden alle nach demselben Schema angestellt. 24 Stunden nach der Infektion, bis zu welchem Zeitpunkte durch Blutentnahmen das Verhalten der Bakterien im Blute genau verfolgt wurde, wurde das Immunserum injiziert. Zu derselben Zeit wurde dem Kontrolltiere eine gleich große Menge normalen Pferdeserums, weil das Immunserum vom Pferde stammt, in die Vene gespritzt. Da wir zur Zeit der Injektion des Immunserums erst die Zahl der Keime, die nach 6 Stunden im Blute der Tiere war, kennen, so wissen wir erst nach weiteren 24 Stunden, auf welche Bakterienmenge dieses eingewirkt hat. Zu derselben Zeit sehen wir jedoch auch bereits, in welcher Weise es die Bakterien im Blute beeinflußt hat, da die auf die Immunserumeinspritzung folgende Blutentnahme stets nach 2 Stunden ausgeführt wurde. Die Versuche wurden mit Stamm Aronson, Höchst und 36 ausgeführt.

Versuch LXIII.

Kaninchen 17. 1700^{grm}. $1 \cdot 5^{ccm}$ Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.
Nach 5 Minuten 40000 Kolonien in 2^{ccm} Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden 9000 „ „ 2 „ „
„ 6 „ Nicht untersucht.
„ 24 „ 3500 Kolonien in 2^{ccm} Blut.
2^{ccm} normales Pferdeserum intravenös.
Nach 26 (2 Stunden) 950 Kolonien in 2^{ccm} Blut.
„ 48 „ 4000 „ „ 2 „ „
Stirbt nach 72 Stunden mit 120000 Kolonien in 2^{ccm} Blut.



Kaninchen 18. 1820 grm. 1·5 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach 5 Minuten	30000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden	12000	„ „	2 „ „
„ 6 „	4000	„ „	2 „ „
„ 24 „	6000	„ „	2 „ „

2 ccm Immunserum intravenös.

Nach 26 (2) Stunden	656	Kolonien in	2 ccm Blut.
„ 48 „	6000	„ „	2 „ „

Stirbt nach 60 Stunden mit 15000 Kolonien in 2 ccm Blut.

Kaninchen 19. 1800 grm. Dieses Tier ist identisch mit Kan. 2 von Versuch LV. 2·5 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös (35 Tage nach der ersten Infektion.

Nach 5 Minuten	12000	Kolonien in	2 ccm Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden	18	„ „	2 „ „
„ 24 „	22	„ „	2 „ „

Nach einer Woche stark abgemagert, stirbt nach 15 Tagen mit sterilem Befund.

Wir entnehmen diesem Versuche, daß das Immunserum unter den hier gesetzten Bedingungen eine Wirkung nicht erkennen läßt. Es kommt zwar kurz nach der Injektion desselben zu einem beträchtlichen Absinken der Keime, doch auch beim normalen Serum ist dasselbe zu konstatieren. Bei beiden Tieren vermehren sich die Bakterien hierauf in demselben Grade, und der Tod tritt beiderseits nach kurzer Zeit ein. Allerdings weist das gestorbene Kontrolltier beträchtlich mehr Keime auf als das Immuntier, wohl deshalb, weil es länger am Leben geblieben ist, und die Keime mehr Zeit gefunden haben, sich zu vermehren.

Nicht ohne Interesse ist der Befund bei Kaninchen 19. Dieses Tier ist eines von den wenigen, welche nach der Infektion mit lebenden Streptokokken mit dem Leben davon gekommen sind, doch ist auch hier, wie wir an der noch bestehenden starken Gewichtabnahme sehen, die Giftwirkung nicht ausgeblieben. Die jetzt gesetzte neuerliche Infektion zeigt, daß eine starke aktive Immunität besteht, da bereits nach 5 Minuten ein großer Teil der eingespritzten Keime — dieses Tier erhielt nämlich eine größere Bakterienmenge als die beiden andern — verschwunden ist. Nach $1^1/_2$ Stunden ist die Menge der noch vorhandenen Streptokokken nur noch minimal, welche infolgedessen auch nach 24 Stunden nicht zur Vermehrung gelangen. Trotzdem aber vermag dieses Tier der Vergiftung nicht zu widerstehen, denn auf die frische Infektion hin erfolgt abermals ein starker Gewichtverlust, so daß es innerhalb von 2 Wochen unter den gewöhnlichen Symptomen stirbt. Der beifolgend wiedergegebene Versuch wurde ebenfalls mit dem Stamm Aronson angestellt.



Versuch LXIV.

Kaninchen 20. 1400 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach 5 Minuten 12000 Kolonien in 2 ccm Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden 3500 „ „ 2 „ „
„ 24 „ 50000 „ „ 2 „ „
2 ccm normales Serum intravenös (Krank).

Stirbt nach $26^1/_2$ Stunden mit 1500000 Keimen in 2 ccm Blut.

Kaninchen 21. 1420 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach 5 Minuten 12000 Kolonien in 2 ccm Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden 448 „ „ 2 „ „
„ 24 „ 1492 „ „ 2 „ „
2 ccm I. S. intravenös.
Nach 26 Stunden 1340 Kolonien in 2 ccm Blut.

Stirbt nach 48 Stunden mit 60000 Kolonien in 2 ccm Blut.

Hier ist der Verlauf beim Kontrolltier ein akut septischer, so daß bereits nach 24 Stunden, zur Zeit der Injektion des normalen Serums, die schwere Erkrankung merkbar war, was auf die große Menge der bereits zu dieser Zeit im Blute vorhandenen Keime zurückzuführen ist. Das andere Tier, das Zeichen von Krankheit nicht erkennen ließ, und welches auch das Immunserum erhielt, wies, wie das Protokoll zeigt, nach 24 Stunden eine auch nicht annähernd so starke Keimvermehrung auf, ein Beweis von der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der verschiedenen Individuen. Trotzdem also dieses Tier sehr günstige Chancen für die Behandlung mit Immunserum bot, so sehen wir doch einen deutlichen Effekt desselben nicht. Das immunisierte Tier stirbt zwar 24 Stunden später als das Kontrollkaninchen, aber das will hier deshalb wenig besagen, weil 24 Stunden nach der Infektion das Kontrolltier bereits reichlich Bakterien im Blute hatte, während die Keimmenge beim anderen Kaninchen zu dieser Zeit viel geringer war, als bei der Kontrolle. Es ist also auch hier eine deutliche Schutzwirkung des Immunserums nicht zu konstatieren.

Im folgenden Versuche haben wir die Bakterienmenge geringer gewählt und größere Tiere benutzt in der Erwartung, eine chronische Infektion zu erzielen. Denn gerade hier ist der Einfluß, den das nachher injizierte Immunserum nimmt, von Interesse, sowohl bezüglich des weiteren Verlaufes der Infektion, als auch bezüglich der Vergiftung.

Versuch LXV.

Kaninchen 22. 2200 grm. 1 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach 5 Minuten 12000 Kolonien in 2 ccm Blut.
„ $1^1/_2$ Stunden 890 „ „ 2 „ „
„ 24 „ 1856 „ „ 2 „ „



2 ccm normales Serum intravenös.

Nach 26 Stunden 204 Kolonien in 2 ccm Blut.
" 48 " 608 " " 2 " "
" 4 Tagen 240 " " 2 " "

Stirbt nach 8 Tagen mit sterilem Befund in 2 ccm Blut, auch in Milz und Leber sind kulturell keine Bakterien nachweisbar.

Kaninchen 23. 2250 grm. 1 ccm Bouillonkultur Stamm Aronson intravenös.

Nach 5 Minuten 7000 Kolonien in 2 ccm Blut.
" $1^1/_2$ Stunden 304 " " 2 " "
" 24 " 1329 " " 2 " "

2 ccm I. S. intravenös.

Nach 26 Stunden 792 Kolonien in 2 ccm Blut.
" 48 " 832 " " 2 " "
" 4 Tagen 27 " " 2 " "

Nach 8 Tagen stark abgemagert, unter fortschreitender Abmagerung stirbt das Tier nach 4 Wochen mit sterilem Befund.

Auch dieser Versuch ergibt eine fast völlige Wirkungslosigkeit des Immunserums hinsichtlich der Behinderung der Infektion und der Vergiftung.

Versuch LXVI.

Kaninchen 24. 2200 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm 36 intravenös.

Nach 5 Minuten 50000 Kolonien in 2 ccm Blut.
" $1^1/_2$ Stunden 12000 " " 2 " "
" 24 " 7000 " " 2 " "

2 ccm normales Serum intravenös.

Nach 26 Stunden 3000 Kolonien in 2 ccm Blut.
" 48 " agonal.

Stirbt nach 50 Stunden mit 120000 Kolonien in 2 ccm Blut.

Kaninchen 25. 2200 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm 36 intravenös.

Nach 5 Minuten 60000 Kolonien in 2 ccm Blut.
" $1^1/_2$ Stunden 18000 " " 2 " "
" 24 " 5000 " " 2 " "

2 ccm I. S. intravenös.

Nach 26 Stunden 3000 Kolonien in 2 ccm Blut.
" 48 " 1288 " " 2 " "
" 3 Tagen 944 " " 2 " "
" 5 " 811 " " 2 " "

Stirbt nach 5 Tagen 6 Stunden mit 804 Kolonien, hochgradig abgemagert.

In diesem Versuche tritt eine Differenz zwischen Immun- und Kontrolltier deutlich zutage, die sich darin äußert, daß die Infektion beim mit normalem Serum behandelten Kaninchen, die anfangs chronisch zu



werden schien, doch einen akuten Verlauf nahm, welcher jedoch beim mit Immunserum behandelten Tiere nicht eintrat. Hier dürfte der Schluß, daß das Immunserum die Infektion unterdrückt hat, berechtigt erscheinen.

Versuch LXVII.

Kaninchen 26. 1900 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm Höchst intravenös.

Nach	5 Minuten	10000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	$1^1/_2$ Stunden	516	„	„	2 „	„
„	24 „	7000	„	„	2 „	„

2 ccm normales Serum intravenös.

Nach	26 Stunden	2032	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	48 „	4000	„	„	2 „	„
„	4 Tagen	1800	„	„	2 „	„

Stirbt nach 5 Tagen mit 10000 Kolonien in 2 ccm Blut.

Kaninchen 27. 1800 grm. 2 ccm Bouillonkultur Stamm Höchst intravenös.

Nach	5 Minuten	12000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	$1^1/_2$ Stunden	744	„	„	2 „	„
„	24 „	3500	„	„	2 „	„

2 ccm I. S. intravenös.

Nach	26 Stunden	1296	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	48 „	488	„	„	2 „	„
„	4 Tagen	0	„	„	2 „	„

Nach 6 Tagen stark abgemagert, stirbt nach 10 Tagen, zum Skelett abgemagert, mit sterilem Befund in Blut, Leber und Milz.

Kaninchen 28. 2200 grm. Dieses Tier ist identisch mit Kaninchen 12, Versuch LX. 3 ccm Bouillonkultur Stamm Höchst intravenös. (30 Tage nach der 1. Infektion.)

Nach	5 Minuten	18000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	$1^1/_2$ Stunden	15	„	„	2 „	„
„	24 „	204	„	„	2 „	„
„	48 „	102	„	„	2 „	„
„	4 Tagen	0	„	„	2 „	„

Bleibt am Leben.

Eine Schutzwirkung des Immunserums dürfte auch in diesem Versuche vorhanden sein, da das immunisierte Tier nach 4 Tagen bakterienfrei ist, während das andere nach 5 Tagen stirbt. Allerdings kann auch hier die Infektion nicht als akut bezeichnet werden, da nach 4 Tagen eine deutliche Abnahme zu merken ist, und auch die Bakterienmenge von 10000 Keimen, die sich im gestorbenen Tiere findet, als äußerst gering angesehen werden muß. Wenn wir als Maßstab für die Intensität einer Infektion das Resultat der mikroskopischen Untersuchung des Blutes ansehen würden, wie dies von manchen Seiten geschieht, so würden wir in den meisten



unserer Kaninchenversuche eine Infektion überhaupt nicht feststellen können, denn Bakterienmengen von 10000 bis 30000 Keimen pro Kubikzentimeter Blut lassen sich mikroskopisch überhaupt nicht nachweisen. Dies wird klar, wenn wir von folgender Überlegung ausgehen: Da in 1 ccm Blut 5000 Millionen rote Blutkörperchen sind, so wird bei einer Bakterienmenge von 10000 pro Kubikzentimeter auf 500000 Blutkörperchen ein Keim kommen. Wenn wir nun annehmen, daß in einem Immersionsgesichtsfeld 500 Blutkörperchen sichtbar sind, so würde man bei der obengenannten Bakterienmenge in je 1000 Gesichtsfeldern einen Mikroorganismus finden. Man würde selbst bei 100000 Bakterien pro Kubikzentimeter 100 Gesichtsfelder absuchen müssen, um einen Keim zu finden. Daraus geht hervor, daß die Keimzahl schon eine ganz enorme sein muß, wenn man schon mikroskopisch die Bakterien nachweisen kann.

Die Heilkraft des Immunserums, die wir nach dem bereits Erwähnten nicht in Abrede stellen wollen, dürfte aber bei dem geringen Infektionsgrad eine äußerst schwache sein, eine entgiftende Fähigkeit hat das Immunserum auch in diesem Versuche nicht gezeigt. Das bereits einmal infizierte Tier (K. 28) hat die neuerliche Infektion leicht überwunden und erwies sich als aktiv immun. Die rasche Bewältigung der Infektion hat auch den Eintritt der Vergiftung verhütet.

Von Interesse und Wichtigkeit ist die Frage, worauf die schwere Erkrankung, die im Gefolge der Streptokokkeninfektion eintritt, zurückzuführen ist. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß es sich hierbei um eine Vergiftung handelt, da ja die meisten Tiere ohne Bakterienvermehrung meist mit sterilem Befund sterben. Es ist viel Arbeit darauf verwendet worden, bei den Streptokokken Gifte darzustellen, und alle Methoden, welche zur Giftgewinnung aus Bakterien zu Resultaten führten, wurden geprüft. Die meisten Autoren fanden auch in den Kulturen Giftstoffe, deren Wirkung jedoch meist gering und insbesondere bei den verschiedenen Stämmen sehr inkonstant war. Auch konnte nicht der Beweis erbracht werden, daß es sich um echte, durch Immunserum neutralisierbare Toxine handelte. Wir haben unser Augenmerk auf die Wirkung der abgetöteten Streptokokkenleiber gelenkt, von der Erwägung ausgehend, daß infolge des Fehlens echter Toxine die Bakterienleibessubstanz die charakteristischen Krankheitssymptome hervorrufen müßte, ganz der Endotoxintheorie Pfeiffers entsprechend.

Diese Versuche wurden zunächst mit dem Aronsonschen Stamm angestellt. Um die Streptokokken in großen Massen zu erlangen, wurden Kolben mit Serumbouillon beimpft und nach 2 Tagen, nach üppigem Wachstum zentrifugiert. Die Bodensätze wurden teils durch einstündiges Erhitzen auf 60°, teils auch durch Toluolsterilisierung abgetötet. Schon



unsere bereits mitgeteilten Immunisierungsversuche mit abgetöteten Streptokokken weisen darauf hin, daß Kaninchen Mengen von 200 ^{ccm} Bouillonkultur, sei es durch Toluol, sei es durch Hitze abgetötet (Kaninchen A, B, C), ja selbst die dreimalige Injektion so großer Massen (Kaninchen E, F) ohne Nachteil überstehen. Da jedoch für Giftversuche kleine Tiere geeigneter sind, und die genannten Tiere 1500 bis 2000 ^{grm} wogen, so wurde ein gleicher Versuch mit kleineren Tieren angestellt. Gleichzeitig wurde ein Tier mit lebenden Streptokokken infiziert, um die Wirkung dieser mit den abgetöteten zu vergleichen.

Versuch LXVIII.

Kaninchen 29. 950 ^{grm}, Satz von 200 ^{ccm} Bouillonkultur in 4 ^{ccm} NaCl aufgeschwemmt und 1 Stunde auf 60 ^{0} erhitzt, intravenös.

Kaninchen 30. 800 ^{grm}, erhält dasselbe.

Beide Tiere bleiben nach einer ganz geringen Abmagerung am Leben.

Kaninchen 31. 1700 ^{grm}, erhält 0·1 ^{ccm} Bouillonkultur lebender Streptokokken intravenös.

Nach	5 Minuten	3000	Kolonien	in	2 ^{ccm}	Blut.
„	1 $^{1}/_{2}$ Stunden	5	„	„	2 „	„
„	24 „	816	„	„	2 „	„
„	3 Tagen	204	„	„	2 „	„

Stirbt nach 6 Tagen unter stärkster Abmagerung mit 4000 Kolonien. Die Organe sind kulturell steril.

Wir entnehmen diesem Versuche, daß auch kleine Tiere große Massen abgetöteter Streptokokken anstandslos vertragen, während geringe Mengen lebender Keime in kurzer Zeit den Tod herbeiführen. Dabei ist eine Vermehrung gegenüber der injizierten Menge, wenn überhaupt, so doch nur in äußerst geringem Maß vorhanden. Man ersieht daraus, wie ungemein schlecht lebende gegenüber abgetöteten Streptokokken vertragen werden.

Im beifolgenden Versuche wurde, um die Abtötung auf schonendere Weise vorzunehmen, die Toluolsterilisierung gewählt.

Versuch LXIX.

Kaninchen 32. 1500 ^{grm}, Satz von 200 ^{ccm} Bouillonkultur bei 60 ^{0} abgetötet, intravenös.

Kaninchen 33 und Kaninchen 34 erhalten dieselben Mengen mit Toluol abgetötet, intravenös.

Sämtliche Tiere bleiben ohne wesentliche Gesundheitsstörung dauernd am Leben.



Also auch hier ist eine pathogene Wirkung der abgetöteten Streptokokken nicht zu konstatieren.

Noch mit einem anderen Stamm (Ver.) wurde ein Versuch angestellt.

Versuch LXX.

Kaninchen 34. Satz von 200 ccm bei 60° abgetöteter Streptokokken, intravenös.

Kaninchen 35. Satz von 200 ccm mit Toluol abgetöteter Streptokokken, intravenös.

Beide Tiere bleiben ohne Abmagerung am Leben.

Kaninchen 36. 1 ccm lebender Bouillonkultur intravenös.

Nach	5 Minuten	35000	Kolonien	in	2 ccm	Blut.
„	1½ Stunden	88	„	„	2 „	„
„	24 „	1800	„	„	2 „	„
„	4 Tagen	3	„	„	2 „	„
„	6 „	0	„	„	2 „	„

Nach 14 Tagen zum Skelett abgemagert und Lähmung der Hinterbeine, bleibt schließlich nach langsamer Erholung am Leben.

In diesem Versuche war die Differenz besonders schön zu sehen, da die mit toten Streptokokken gespritzten Kaninchen auch nicht die geringste Abmagerung zeigten. Der Verlauf beim infizierten Tiere bestätigt nur unsere zahlreichen früheren Erfahrungen; zur Zeit der stärksten Abmagerung betrug das Gewicht dieses Tieres 1100 gegen 2000 grm Anfangsgewicht, und selbst nach der Erholung ist das Gewicht gegen die beiden anderen Tiere um 500 grm im Rückstand. (Nach 2 Monaten.)

Diese Versuche beweisen zur Genüge, daß bei der im Verlaufe der chronischen Streptokokkeninfektion eintretenden Krankheit, die meist den Tod der Kaninchen zur Folge hat, obwohl in den allermeisten Fällen eine Bakterienvermehrung vermißt wird, nicht die Leibessubstanz der Streptokokken, das Endotoxin, eine Rolle spielt. Dieses ist gerade bei den Streptokokken in auffallender Weise ungiftig. Daß diese Tatsachen schon den Forschern, welche früher die Streptokokken bearbeitet haben, bekannt waren, geht aus der Bemerkung von Lingelsheim im Handbuch von Wassermann und Kolle hervor, woselbst er anläßlich der Besprechung der Giftwirkung des Streptococcus sagt: „Jedenfalls kommt der lebenden Streptokokkenzelle eine viel energischere und durch totes Material bisher nicht reproduzierbare Wirkung zu.“



Nach dem Ergebnis der im vorangehenden Abschnitt mitgeteilten Kaninchenversuche ist es nicht zweifelhaft, daß das Aronsonsche Immunserum auch bei diesem Tiere eine spezifische Schutzwirkung entfaltet. Worauf nun diese zurückzuführen ist und welche Rückschlüsse sie auf die menschliche Streptokokkeninfektion gestattet, wollen wir im nachfolgenden zu entscheiden suchen. Der Wirkungsgrad des Immunserums ist verschieden, je nachdem man die Infektion gleichzeitig mit der Immunseruminjektion oder längere Zeit vor derselben vornimmt. Im ersteren Falle besteht die auffallendste Wirkung des Immunserums darin, daß es die septische rasch zum Tode führende Infektion zu unterdrücken vermag. Nun entsteht die Frage, was das Immunserum hierzu befähigt. Wir sehen auch bei der Maus in der Verhinderung der septischen Infektion die Hauptaufgabe des Immunserums und konnten feststellen, daß ausschließlich die bakteriotrope Fähigkeit für diesen Erfolg verantwortlich zu machen ist. Beim Kaninchen liegen die Verhältnisse insofern anders, als wir hier nicht subkutan oder intraperitoneal, sondern durchweg intravenös infiziert haben. Denn sowohl in der Subkutis als auch im Peritoneum ist der Leukozytenzustrom ein ungemein reichlicher und der Kontakt mit den Bakterien ein dauernder und inniger. Im strömenden Blute hingegen ist trotz stärkster Leukozytose die Leukozytenmenge eine so minimal geringe im Vergleich zu einer lokalen Leukozytenansammlung, daß wir uns ein erfolgreiches Wirken der Leukozyten im strömenden Blute nur schwer vorstellen können. Unsere früheren Infektionsversuche mit Streptokokken, auf die wir verweisen, haben uns zu der Überzeugung gebracht, daß die Wachstumshemmung der Streptokokken im Blute des lebenden Tieres nicht auf Leukozytenbakterizidie zurückzuführen ist, sondern auf bisher unbekannte intravital wirkende Kräfte, die auch von der Serumbakterizidie völlig verschieden sind.

Wenn wir nun den Infektionsverlauf des mit Immunserum behandelten Tieres mit dem des Kontrolltieres vergleichen, so sehen wir, daß die bei allen Tieren sofort eintretende Bakterienverminderung bei den Immuntieren besonders stark ausgesprochen ist (Kan. 4, 6, 10). Da nun diese anfängliche Keimverminderung beim Streptococcus als ein Filtrationseffekt der Organe angesehen werden muß (Wissokowicz), so muß dieser bei den Immuntieren besonders stark ausgesprochen sein. Eine Erklärung hierfür ist leicht zu finden, wenn man bedenkt, daß das Immunserum stark agglutinierend wirkt, wodurch ein Steckenbleiben der Streptokokkenhaufen in den Kapillaren leicht möglich ist. Sind nun einmal die Streptokokken zum großen Teil in den Organen abgelagert, so werden sich daselbst die Leukozyten in großer Masse ansammeln und infolge der phagozytosefördernden Fähigkeit des Immunserums die Keime leicht



abtöten. Die Streptokokkenmenge im Blute wird dann dauernd eine geringe sein, so daß hier eine Vermehrung nicht stattfinden wird. Beim Normaltiere hingegen wird infolge Fehlens der Phagozytose die Vernichtung in den Organen nicht zustande kommen, da diese Stämme ohne Phagozytose von den Leukozyten in erheblichem Maße nicht abgetötet werden. Sie werden sich demnach in den Organen leicht vermehren, so daß sie fortwährend ins Blut eingeschwemmt werden, wo sie schließlich selbst zum Wachstum gelangen und den Tod herbeiführen.

Sehr gering ist die Wirkung des Immunserums, wenn es 24 Stunden nach der Infektion injiziert wird, obzwar die Vermehrung der Bakterien im Blute nicht so stark ausgesprochen ist, daß Chancen zur Unterdrückung derselben nicht vorhanden wären. Ein mäßiges Absinken der Keimzahl im Blute ist zwar nach der Immunseruminjektion zu konstatieren, doch ist darin nicht eine spezifische Wirkung zu erblicken, da auch durch die Injektion des Normalserums dasselbe Absinken der Streptokokken erfolgt. Es ist sehr auffallend, daß sowohl bei unbehandelten als insbesondere bei den immunisierten Tieren die in die Blutbahn gespritzten Keime sehr rasch und in großer Zahl aus dem Blute verschwinden, wohingegen die nach 24 Stunden im Blute vorhandenen Keime sich dem Immunserum gegenüber so resistent verhalten. Nun wissen wir aber, daß nach dieser Zeit bereits eine neue Bakteriengeneration im Blute kreist, da ja stets auf die sofortige Keimabnahme eine Vermehrung folgt, die bei den Tieren, welche nicht der akuten Infektion erliegen, nach 24 Stunden meist ihren Höhepunkt erreicht hat. Da nun die im Tierkörper gewachsenen Bakterien gegen Antikörper, insbesondere gegen Agglutinine (Bail) sehr widerstandsfähig sind, so wird es verständlich, daß diese tierischen Streptokokken vom Immunserum nicht agglutiniert und nicht in die Organe ausgefällt werden. Daß nun die einmal im Blute gewachsenen Keime trotz des Immunserums auch nach längerer Zeit nicht verschwinden, ist ein weiterer Beweis für die Wirkungslosigkeit der Leukozyten im strömenden Blute, die ja die in so geringer Menge vorhandenen Streptokokken mit Hilfe des Immunserums binnen kurzer Zeit aus dem Blute entfernen müßten, besonders wenn man bedenkt, welche Massen von Keimen die Leukozyten in der Bauchhöhle bewältigen. Für die schwache Wirkung des nachträglichen Immunserums spricht auch der Umstand, daß es öfters die zum Tode führende Vermehrung nicht aufzuhalten vermag, auch wenn die Infektion keine akut septische ist (Kan. 18, 21). Gleichzeitig wirkt es jedoch, wie wir gesehen haben, auch gegen letztere mit Sicherheit.

Völlig versagt das Immunserum gegenüber der im Verlaufe der chronischen Infektion konstant eintretenden Vergiftung. Da es heute sichergestellt ist, daß ein Immunserum sowohl das Endotoxin als auch das Toxin



entgiften kann, so wäre es von Wichtigkeit, die Ursache zu finden, warum das Streptokokkenimmunserum hier machtlos ist. Am wahrscheinlichsten wäre es zunächst, daß das Streptokokkengift doch ein Endotoxin wäre, was auch zum Teil die Wirkungslosigkeit des Immunserums verstehen ließe. Denn nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Bessau wissen wir, daß zur Paralisierung des Endotoxins meist sehr große Serumdosen nötig sind, und daß letztere wiederum nur beschränkte Mengen von Gift unwirksam machen. Außerdem erfolgt nach ihrer Vorstellung die Entgiftung nicht wie beim Antitoxin durch einen Bindungsprozeß, sondern durch einen der Bakteriolyse ähnlichen Vorgang, bzw. durch eine weiter fortschreitende Bakteriolyse, welche darin besteht, daß durch Immunkörper und Komplement zugleich mit dem Bakterienleibe auch dessen giftige Bestandteile zerstört werden. Da nun aber der Streptococcus der Bakteriolyse nicht unterliegt, und auch im Immunserum bakteriolytische Immunkörper nicht nachweisbar sind, so würde trotz starker antiinfektiöser Wirkung (die auf den Bakteriotropinen beruht) eine Wirkung auf das Endotoxin nicht bestehen. Dieser theoretisch plausiblen Anschauung widerspricht jedoch der tatsächliche Befund, da, wie wir zeigen konnten, große Massen von toten Streptokokkenleibern ohne Schaden vertragen werden, so daß hier also Endotoxine gar nicht in Betracht kommen. Es existiert eine große Reihe Arbeiten darüber, ob der Streptococcus echte Toxine bildet. Die meisten Forscher, welche sich mit dieser Frage beschäftigten, haben mehr oder weniger giftige Stoffe in den Nährlösungen, die sie durch verschiedene Zusätze geeignet zu machen suchten, gefunden, und haben auch den Schluß gezogen, daß der Streptococcus Toxine produziert. Der Beweis jedoch, daß Antitoxine diese Giftstoffe paralisieren, steht noch aus. Von besonderem Interesse nach dieser Richtung hin ist die Arbeit von Braun, der in Filtraten junger (10stündiger) Kulturen Gifte fand, welche Kaninchen entweder akut innerhalb 24 Stunden oder chronisch unter Abmagerung und Lähmungen töteten. Meerschweinchen und Mäuse waren unempfindlich. Dies ist deshalb von Wichtigkeit, weil diese Tiere auch nach Infektion mit lebenden Streptokokken nur ausnahmsweise Symptome von Vergiftung aufweisen. Über Versuche, ob ein Immunserum, welches mit diesen Giften hergestellt ist, diese paralisiert, ist in der Arbeit von Braun nichts berichtet. Der Umstand, daß das Aronsonsche Immunserum die bei der Infektion wirkenden Gifte nicht unschädlich macht, spricht wohl mit sehr großer Wahrscheinlichkeit gegen eine Toxinnatur derselben, denn nach der Herstellungsweise müßte das Aronsonsche Immunserum wohl Antitoxine enthalten. Die großen Massen injizierter lebender Kulturen bilden im Tierkörper sicherlich das genannte Gift, welches, wenn es ein Antigen darstellen würde, eine Antitoxinbildung



veranlassen müßte. Da dies nicht der Fall ist, so sind wir auch nicht zur Annahme berechtigt, daß die chronische Vergiftung beim Streptococcus auf einer Toxinwirkung beruht. Die Art und Weise, wodurch diese Vergiftung zustande kommt, bleibt vorderhand vollkommen dunkel.

Bereits im zweiten Abschnitt haben wir auf die Analogien, die zwischen der Streptokokkeninfektion des Kaninchens und des Menschen bestehen, hingewiesen. Infolge dieser Beziehungen schien uns auch das Kaninchen zu den Immunitätsversuchen besonders geeignet, weil man annehmen konnte, daß die dabei erzielten Befunde sich mit einer gewissen Berechtigung auf den Menschen übertragen lassen. Dies ist deshalb von Wichtigkeit, weil noch immer keine Klarheit darüber herrscht, welche Erfolge durch die Anwendung des Streptokokkenimmunserums beim Menschen zu erzielen sind. Die entgegen der Behauptung von Aronson und Marxer nun sicher festgestellte Tatsache, daß eine Verschiedenheit der Streptokokken in immunisatorischer Hinsicht besteht, übt natürlicherweise einen sehr ungünstigen Einfluß auf die praktische Verwertung aus. So fanden wir in den 14 von uns untersuchten Streptokokkenaffektionen keinen einzigen Stamm, welcher von den Immunkörpern des Aronsonschen Immunserums beeinflußt wurde. Da nun dieses, wie wir feststellen konnten, und was auch mit den Angaben Aronsons übereinstimmt, nur einen Immunkörper enthält, so wäre es in allen unseren Fällen ohne jeglichen Einfluß gewesen. Ein ganz analoges Ergebnis hatten auch die bereits erwähnten Untersuchungen Heimanns. Da es aber ganz zweifellos, wie Aronson und Marxer gefunden, und wir bestätigt haben, Stämme gibt, auf welche das Aronsonsche Immunserum wirkt, so ist zu erwägen, welche Vorteile es bringen würde, das Immunserum in einem Falle anzuwenden, bei welchem, wir können wohl sagen zufällig, die Infektion durch einen solchen Stamm bedingt ist. Bevor wir diese Frage zu entscheiden suchen, müssen wir uns erst über die näheren Umstände klar werden, unter welchen das Immunserum beim Menschen zur Anwendung gelangt. Die hauptsächlichste Indikation hierfür bildet die „Streptokokkensepsis". Es sei jedoch gleich darauf hingewiesen, daß die Kliniker unter Sepsis meist etwas ganz anderes verstehen, als es in Wirklichkeit ist. Im klinischen Sprachgebrauche meint man damit die bloße Anwesenheit von Streptokokken im Blute, während in Wirklichkeit die starke aktive Vermehrung der Bakterien im Blute des lebenden Organismus als Sepsis zu bezeichnen ist. Wir haben bereits erörtert, daß diese beim Menschen nur selten ist, daß meist nur jene Infektionen auftreten, bei welchen sich nur wenige Streptokokken durch längere Zeit im strömenden Blute finden, welche aber trotzdem meist ein schweres Krankheitsbild erzeugen. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Anwesenheit lebender Streptokokken

im Blute, auch wenn sie in noch so geringer Menge auftreten, nur sehr schlecht vom Menschen vertragen wird, welcher ebenso wie das Kaninchen gegenüber jener bisher unbekannten Giftwirkung sehr empfindlich ist. Dies beweisen insbesondere die in jüngster Zeit ausgeführten ungemein interessanten und wichtigen Untersuchungen von C. Römer, aus welchen hervorgeht, daß die nur kurzdauernde Anwesenheit von aerogenen Streptokokken im Blute schon sehr schwere und gefahrvolle Krankheitserscheinungen hervorruft. Der Annahme dieses Autors entsprechend besitzt das Blut eine stark desinfizierende Kraft, vermöge welcher es eine rasche Abtötung der in den Kreislauf gelangten Streptokokken bewirkt, welche infolge der aus ihnen freiwerdenden Endotoxine die Vergiftung hervorrufen. Allerdings stimmen diese Vorstellungen nicht mit unseren Versuchsergebnissen beim Kaninchen überein, denn bei diesem Tiere beruht das rasche Verschwinden der Streptokokken sicherlich nicht auf einer Bakterizidie des Blutes, sondern auf einer Filtrationswirkung der Organe. Auch im Reagensglase fehlt dem Kaninchenblute jegliche keimtötende Kraft gegenüber dem Streptococcus. Daß sie auch im Tierkörper fehlt, konnten wir daraus schließen, daß die nach der Organwirkung im Blute zurückgebliebenen Keime in den allermeisten Fällen eine oft nicht unerhebliche Vermehrung erfahren, die bis 24 Stunden anhält und dann zum Stillstand gelangt. Dieser Keimanstieg läßt sich mit der Annahme einer Blutbakterizidie nicht vereinbaren. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß auch beim Menschen das rasche Verschwinden der ins Blut gepreßten Keime (Ausräumung eines Abortus) auf Organfiltration zurückzuführen ist, denn auch das menschliche Blut besitzt unseres Wissens keine Bakterizidie gegen Streptokokken. Daß beim Menschen ein Wiederauftreten der in den Organen zurückgehaltenen Streptokokken nicht erfolgt, liegt daran, daß hier im Verhältnis zur künstlichen Kanincheninfektion die Zahl der Keime eine außerordentlich geringe ist. Jedenfalls aber ist auf Grund der von C. Römer festgestellten Tatsache mit Sicherheit festgestellt, daß auch beim Menschen die Streptokokkeninfektion meist eine Giftwirkung ist.

Nun haben wir aber gesehen, daß das Immunserum, welches eine schwere Infektion mit Sicherheit zu verhüten befähigt ist, gegenüber der Giftwirkung der Streptokokken vollkommen machtlos ist. Nur in jenen Fällen, wo das Immunserum gleichzeitig mit einer sehr geringen Infektionsdosis verabfolgt wird, und wo es die Infektion sofort von vornherein unterdrückt, so daß auch eine geringe Vermehrung unterbleibt, bleibt auch die Vergiftung aus. Nun kommt man aber beim Menschen niemals in die Lage, das Immunserum unter diesen Bedingungen zu injizieren, meist gelangt es zur Anwendung, wenn die Infektion schon erfolgt ist und Krankheitserscheinungen bereits bestehen. Wie äußerst gering jedoch



der Schutz des Immunserums bei bereits bestehender Infektion ist, haben wir unseren Kaninchenversuchen entnommen. Man könnte sich aber vorstellen, daß die schwächste beim Kaninchen gesetzte künstliche Infektion immer noch stärker ist, als die unter gewöhnlichen Bedingungen beim Menschen vorkommende, so daß hier das Immunserum doch einen günstigen Einfluß nehmen müßte. Dem muß aber entgegengehalten werden, daß bei einer derart geringen Infektion, bei welcher Streptokokken im Blute meist nicht nachgewiesen werden, die Infektion als solche gar nicht bekämpft zu werden braucht, sondern nur die Vergiftung, gegen welche jedoch das Immunserum völlig machtlos ist. Dabei muß besonders betont werden, daß die hier erörterten Verhältnisse nur für jene Infektionen gelten, welche mit einem Stamm erfolgt sind, gegen welchen das Aronsonsche Immunserum schützt. Es wurde jedoch schon darauf hingewiesen, daß die meisten vom Menschen gezüchteten Stämme zu diesem Immunserum gar keine Beziehung haben und von ihm gar nicht beeinflußt werden, ein Umstand, der seiner praktischen Verwertung sehr im Wege steht. Daß das Immunserum bei einer echten Sepsis, selbst wenn ihr Erreger ein dem Originalstamm identischer Streptococcus ist, ohne Erfolg sein wird, dürfte nach unseren Heilversuchen beim Kaninchen leicht einzusehen sein.

Die Wirkungslosigkeit des Streptokokkenimmunserums wird verständlich, wenn wir jene Kaninchenversuche berücksichtigen, welche ergeben haben, daß infizierte Tiere konstant ein starkes Schutzserum liefern, selbst aber schwer erkranken und meist sterben, ohne daß eine Vermehrung der injizierten Streptokokken erfolgt. Dies ist, da hierbei die Vergiftung die ausschlaggebende Rolle spielt, ein weiterer Beweis dafür, daß im Verlaufe der Infektion die Tiere nicht giftfest werden, trotzdem es zur Ausbildung reichlicher antiinfektiöser Immunkörper kommt. Wichtig wäre es nun, die Frage zu entscheiden, ob auch beim Menschen die Vorgänge ähnlich sind, da dies ja für die Anwendung des Immunserums von Bedeutung wäre. Über diese Frage wurden schon sehr bald Untersuchungen angestellt, so zunächst von Fehleisen, welcher nachwies, daß ein durch eine künstliche Infektion mit Streptokokken hervorgerufenes Erysipel sich ein zweitesmal nicht erzeugen ließ, wenn die Infektion nach einigen Wochen vorgenommen wurde. Koch hat auf Grund seiner in Gemeinschaft mit Petruschki angestellten Versuche dies bestritten, da er bei einem Karzinomkranken innerhalb 1 bis 2 Wochen zwölfmal ein Erysipel erzeugen konnte. Diesem Versuche ist jedoch deshalb keine Beweiskraft zuzusprechen, weil durch die in so kurzer Zeit erfolgten zahlreichen Infektionen sich eine Immunität nicht ausbilden konnte. Im Anschluß hieran hat sich Neufeld die Frage vorgelegt, ob beim Menschen, der



eine Streptokokkeninfektion durchgemacht hat, im Blute Schutzstoffe auftreten. Er mußte diese Frage verneinen, da er bei einem Falle, der an einer Streptokokkeninfektion mit Streptokokken im Blute erkrankt und genesen war, eine Schutzkraft des Blutes auch gegen den eigenen Stamm nicht feststellen konnte. Dieser Versuch ist deshalb zu beanstanden, weil Neufeld erst 4 Wochen nach der Heilung zu einer Zeit, wo die Antikörper bereits im Abklingen sind, die Immunitätsprüfung gegen einen fremden Stamm, gegen welchen meist ein Schutz nicht besteht, und erst nach 7 Wochen gegen den eigenen Stamm vorgenommen hat. Um diese Frage zu entscheiden, ist es nötig, während der Infektion die Untersuchung auf Immunstoffe vorzunehmen, da bereits nach 10 Tagen das Blut der schwerkranken Kaninchen Schutzwirkung entfaltet. Es ist nicht wahrscheinlich, daß sich der Mensch so ganz anders als das Kaninchen verhalten sollte, daß es bei ihm nicht zur Ausbildung von Schutzstoffen kommen sollte, vorausgesetzt natürlich, daß der infizierende Streptococcus antigene Eigenschaften besitzt. Treten jedoch beim infizierten Menschen ebenso wie beim Kaninchen schon kurze Zeit nach der Infektion Antikörper auf, und bewirken dieselben ebensowenig wie beim Kaninchen Heilung, so ist von vornherein jegliche Serumtherapie aussichtslos, da wir ja mit dieser nichts bezwecken würden, als jene Stoffe einzuführen, die bereits im Blute, ohne eine Heilwirkung auszuüben, vorhanden sind.

Mußten wir auf Grund der bisherigen Überlegungen, die jedoch experimentellen Tatsachen entsprungen sind, dem Streptokokkenimmunserum bei der Allgemeininfektion des Menschen jeglichen voraussichtlichen Erfolg absprechen, so fragt es sich, ob nicht doch die Möglichkeit besteht, bei lokalen Erkrankungen (Phlegmone, Peritonitis usw.) einen Effekt zu erzielen. Da aber eine spezifische Behandlung auch hier nur dann aussichtsvoll wäre, wenn der Erreger dieser Affektion ein Streptococcus ist, der vom Immunserum beeinflußt wird, was jedoch nur ganz ausnahmsweise der Fall sein dürfte, so wird man dem dadurch abzuhelfen suchen, daß man in kurzer Zeit ein auf den infizierenden Stamm wirksames Immunserum herzustellen versucht. Dies wird innerhalb 10 Tagen möglich sein, wenn wir mit dem gezüchteten Stamm ein Kaninchen infizieren; steht nun dieser Zeitraum zur Verfügung, was wohl bei einer chronischen Streptokokkeninfektion meist der Fall sein wird, so wären wir in die Lage versetzt, ein Immunserum anzuwenden, welches Immunkörper gegen den infizierenden Stamm besitzt. Dann sollte man erwarten, daß dieses eine rasche Abtötung der im Lokalaffekt befindlichen Streptokokken und damit im Zusammenhang eine rasche Heilung bewirkt und eine Allgemeininfektion verhütet. Diese Voraussetzung würde jedoch nicht zu Recht bestehen, wenn das Immunserum gegen die im Tierkörper ge-



wachsenen Streptokokken ohne Wirkung wäre, ähnlich wie bei unseren Kaninchenversuchen, wo ein deutlicher Schutz fehlte, wenn bereits infizierte Kaninchen behandelt wurden. Oder es ist nicht von der Hand zu weisen, daß der Organismus auch bei einer Lokalinfektion mit der Ausbildung von Antikörpern reagiert, so daß die Injektion eines Immunserums überflüssig wäre. Sollte nun einer dieser beiden Umstände eintreten, so würde sich auch die Hoffnung, eine Lokalaffektion mit Erfolg spezifisch zu behandeln, als trügerisch erweisen.

Zusammenfassung.

1. Das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum, welches gegen den Originalstamm sehr wirksam ist, wird durch Behandlung mit den abgetöteten Leibern dieses Stammes seiner Wirksamkeit vollständig beraubt.

2. Komplementbindende Systeme (sensibilisierte Bakterien, spezifische Präzipitate) heben die Immunserumwirkung in der Bauchhöhle von Mäusen auf.

3. Durch vorherige Leukozytenansammlung im Peritoneum wird die Wirkung des komplementbindenden Systems abgeschwächt oder ganz aufgehoben, so daß die Schutzwirkung des Immunserums bestehen bleibt.

4. Das komplementbindende System verhindert den Schutz des Immunserums dadurch, daß es die Leukozytenstoffe bindet und unwirksam macht. Die Bindung des Komplementes scheint bedeutungslos. Dies geht daraus hervor, daß ein so stark komplementbindendes System, wie ein spezifisches Eiweißpräzipitat, nur schwach wirksam ist (da es nur wenig Leukozytenstoffe absorbiert), während ein Unterschied zwischen sensibilisierten und nicht sensibilisierten Choleravibrionen nicht besteht, obwohl letztere viel weniger Komplement binden, sich aber in bezug auf Leukozytenwirkung gleich verhalten. Das Kaolin, welches zwar auch Komplement, jedoch ungemein stark die Leukozytenstoffe bindet, wirkt ebenfalls nur durch die Ausschaltung der Leukozytenstoffe bei der Verhinderung der Immunserumwirkung.

5. Durch vorherige Ansammlung von Leukozyten in der Bauchhöhle ist die Menge ihrer bakteriziden Stoffe eine so große, daß die im Vorangehenden genannten Substanzen sie nicht vollständig zu binden vermögen, so daß der Schutz des Immunserums zum Teil erhalten bleibt.

6. Deutet dies schon darauf hin, daß für das Streptokokkenimmunserum die Leukozyten eine bedeutende Rolle spielen, so wird dies zur Gewißheit, wenn wir unsere Reagenzglasversuche berücksichtigen. Diese ergeben, daß das Immunserum nur bei Anwesenheit der Leukozyten (Maus) die



Streptokokken abtötet. Da nur die lebenden Leukozyten, nicht aber die abgetöteten oder deren Stoffe mit dem Immunserum zusammenwirken, so weist dies auf die ausschlaggebende Bedeutung der Bakteriotropine hin. Das Immunserum wirkt stark agglutinierend und täuscht dadurch eine Bakterizidie vor, besitzt sie aber in der Tat nicht.

7. Schutzstoffe, welche die Eigenschaft der Antiaggressine haben, wie bessere Wirkung bei vorheriger Injektion oder Unmöglichkeit sie durch Bakterienbehandlung zu erschöpfen, besitzt das Aronsonsche Streptokokkenimmunserum nicht.

8. Das Immunserum schützt nicht nur gegen den Originalstamm, sondern auch gegen eine Reihe sowohl vom Menschen als auch von Pferden (Druse) gezüchteter Stämme. Die meisten vom Menschen gezüchteten Streptokokkenstämme, ganz unabhängig von ihrer Tiervirulenz, werden vom Aronsonschen Immunserum nicht beeinflußt.

9. Trotz der polyvalenten Herstellungsweise besitzt das Immunserum nur einen Immunkörper, mittels welchen es auf alle jene Stämme, gegen welche es schützt, wirkt. Denn durch Behandlung mit dem Originalstamm verliert es seinen Schutzwert gegenüber allen fremden Stämmen, die es beeinflußt, und durch Erschöpfung mit einem dieser fremden Stämme wird es gegen alle andren unwirksam. Dahingegen bleibt es nach Behandlung mit den Stämmen, die es nicht beeinflußt, gegenüber allen Stämmen in seinem Schutzwert unverändert.

10. Das Immunserum wirkt am besten, wenn es gleichzeitig mit der Infektion verabreicht wird, besonders dann, wenn die Infektion subkutan erfolgt. Weniger auffällig ist die Differenz, wenn intraperitoneal infiziert wird.

11. 14 vom Menschen gezüchtete Streptokokkenstämme waren nicht imstande, das Immunserum durch Behandlung unwirksam zu machen. Da nun das Immunserum nur einen schützenden Immunkörper besitzt, so wäre seine Anwendung bei allen diesen Stämmen erfolglos gewesen.

12. Das Immunserum, ungefähr in der 10fach schützenden Dosis injiziert, verhindert ungefähr eine Woche lang die Infektion.

13. Um antiaggressive Schutzstoffe zu erzeugen, wurden Kaninchen mehrmals mit größeren Mengen Aggressin injiziert, doch ohne Erfolg. Es waren auch in dem Serum der so behandelten Tiere keine Bakteriotropine nachweisbar. Diese traten erst auf, als diese zwar aktiv immunen Tiere mit lebenden Streptokokken infiziert wurden.

14. Da nun die Aggressine sicherlich Bakteriensubstanz enthalten, so ist es schwer verständlich, warum im Serum keine Bakteriotropine ent-



stehen, da ja der allgemeinen Annahme entsprechend das Antigen für dieselben die Bakteriensubstanz ist. Es wurden demnach Kaninchen mit großen Mengen abgetöteter Streptokokken behandelt. Nach einmaliger Infektion wies das Serum keine Spur von Schutzwirkung auf, während die einmalige Injektion mit vielhundertfach geringerer Menge lebender Streptokokken, die sich im Organismus nicht vermehren, Schutzstoffe in großer Menge erzeugt. Erst nach mehrmaliger Injektion mit großen Massen abgetöteter Streptokokken treten Schutzstoffe auf. Dies beweist, daß die Antigene für die schützenden Antikörper nicht die gewöhnliche Streptokokkenleibessubstanz darstellen, sondern einen Bestandteil des lebenden Mikroorganismus bilden, der in den abgetöteten Streptokokken nur in minimaler Menge vorhanden ist.

15. Ein mit dem Aronsonschen Stamm hergestelltes Kaninchenimmunserum schützt gegen alle die Stämme, auf welche das Aronsonsche Immunserum wirkt. Dies beweist wiederum, daß der Schutz, den dieses Immunserum ausübt, nur durch die Immunkörper, die vom Originalstamm erzeugt wurden, bedingt ist.

16. Daß die große Menge der zur Immunisierung verwendeten vom Menschen gezüchteten Stämme keine Antikörper erzeugt, wird vielleicht dadurch erklärlich, daß diese für das Pferd völlig avirulent sind, sofort absterben, gar keine Reaktion hervorrufen und sich den abgetöteten Streptokokken gegenüber ähnlich verhalten, welche, wie wir gesehen haben, sich zur Antikörpererzeugung nur sehr schlecht eignen.

17. Auch bei der intravenösen Infektion des Kaninchens erweist sich das Immunserum wirksam, wenn es gleichzeitig mit der Infektion intravenös injiziert wird. Seine Wirkung besteht darin, daß es die akute rasch zum Tode führende Vermehrung aufhält und die akute Infektion in eine chronische umwandelt.

18. Die im Gefolge der chronischen Infektion konstant auftretende Vergiftung vermag es nicht zu verhindern.

19. Aus diesem Grunde ist auch ein Schutz des Immunserums gegenüber einer von vornherein chronischen Infektion beim Kaninchen nicht zu konstatieren.

20. Wird das Immunserum 24 Stunden nach der Infektion injiziert zu einer Zeit, wo die Bakterienvermehrung noch nicht stark fortgeschritten ist, so daß die Chancen zu einer Heilwirkung noch günstig sind, so ist trotzdem entweder gar kein oder nur ein geringer Effekt zu sehen. Letzterer bezieht sich nur auf eine Hemmung der Bakterienvermehrung, nicht aber auf eine Verhinderung der Vergiftung.

21. Die im Verlaufe der chronischen Infektion stets eintretende Intoxikation kann unmöglich als eine Endotoxinwirkung aufgefaßt werden, da die selbst in schonendster Weise abgetöteten Streptokokken, in großen Massen kleinen Kaninchen intravenös injiziert, für diese völlig ungiftig sind. Dahingegen erzeugen lebende Streptokokken in tausendfach geringerer Menge, ohne sich zu vermehren, ein schweres Krankheitsbild.

22. Auch ein echtes Toxin kann für die Vergiftung nicht verantwortlich gemacht werden. Einerseits ist der Nachweis eines solchen bisher nicht geglückt, und anderseits fehlt das für das Toxin wichtigste Charakteristikum, das spezifische Antiotoxin. Dieses müßte jedoch im Aronsonschen Immunserum vorhanden sein; denn infolge der großen Mengen lebender Streptokokken, die Pferden injiziert werden, müßte das Toxin im Körper zur Wirkung gelangen und eine spezifische Antiotoxinproduktion auslösen. Das Fehlen derselben spricht gegen die antigene Natur der Giftstoffe des Streptococcus. Die Natur des von den lebenden Streptokokken gelieferten Giftes bleibt vorderhand dunkel.

23. Einer erfolgreichen Anwendung des Immunserums beim Menschen steht zunächst der Umstand im Wege, daß es nur ausnahmsweise gegen einen vom Menschen gezüchteten Stamm schützt. Auch wenn die Erkrankung durch einen solchen Stamm hervorgerufen wäre, so würde eine Wirkung deshalb nicht eintreten, weil bei den meisten chronischen Streptokokkenerkrankungen des Menschen die Giftwirkung die Hauptrolle spielt, gegen welche das Immunserum völlig machtlos ist. Möglicherweise wird man bei einer Lokalaffektion durch rasche Erzeugung eines Immunserums mit dem infizierenden Stamm einen Erfolg erzielen.



Literatur-Verzeichnis.

Aronson, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1909. Nr. 15.
Bail u. Kleinhans, *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. XII.
Braun, *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. LXII.
Denys u. Leclef, *Cellule.* Bd. XI.
Fehleisen, *Ätiologie des Erysipels.* Berlin 1883.
Friedberger, *Festschrift z. 70. Geburtstage Leydens.*
Heimann, *Zeitschrift f. Geburtshilfe u. Gynäkologie.* Bd. LXXI.
Derselbe, *Münchener med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 42.
Koch u. Petruschky, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIII.
Marxer, *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. LX.
Derselbe, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1910. Nr. 34.
Meyer u. Ruppel, *Med. Klinik.* 1907.
Neufeld, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 11.
Neufeld u. Rimpau, *Ebenda.* 1904. Nr. 4.
Pfeiffer u. Moreschi, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1906. Nr. 3.
Römer, C., Brauers *Klin. Beiträge.* Bd. I. Hft. 2.
Weil, E., *Diese Zeitschrift.* Bd. LXVIII.



[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Prof. Dr. Flügge.)

Die Gewinnung von keimfreiem Trinkwasser im Felde.

Von

Stabsarzt Dr. **Kunow,**
kommandiert zum Institut.

Die Versuche, jedem einzelnen Soldaten im Felde Mittel an die Hand zu geben, um sich aus dem zur Verfügung stehenden Oberflächenwasser in kurzer Zeit selbst ein einwandfreies und schmackhaftes Trinkwasser herzustellen, haben bisher noch nicht zu einem Verfahren geführt, welches unter Berücksichtigung des tatsächlichen Bedürfnisses der Truppen und der feldmäßigen Anwendbarkeit zu allgemeiner Einführung empfohlen werden kann. Aus rein technischen Gesichtspunkten ist man daher auch in der Armee zur Sammelversorgung übergegangen, welche der verschiedenen Größe der einzelnen taktischen Verbände angepaßt ist und die Vernichtung der Krankheitskeime durch Abkochen des Wassers erreicht. Kleine Truppenverbände bleiben jedoch bei getrennter taktischer Verwendung in der Regel auf den Inhalt der an der Zentralstelle gefüllten Feldflaschen angewiesen, da trotz der großen Zahl der zur Entkeimung von Oberflächenwasser empfohlenen chemischen Mittel und der verschiedenen Filterapparate bisher kein Verfahren einer strengen bakteriologischen Kontrolle standgehalten hat. Trotzdem darf aber, wie Hetsch in dem Lehrbuch der Militärhygiene ausführt, „die weitere Erprobung von Filterapparaten und chemischen Mitteln für die Zwecke einer schnellen und wirksamen Trinkwassersterilisierung nicht als von vornherein aussichtslos aufgegeben werden; denn nur dadurch, daß wir auch dem einzelnen, von seiner Truppe getrennten Manne ein Mittel an die Hand



geben können, mit dem er sich jederzeit schnell und in einfachster und zuverlässigster Weise ein einwandfreies Trinkwasser bereiten kann, werden wir in der für die Bekämpfung der Heeresseuchen so überaus wichtigen Frage der rationellen Wasserversorgung im Felde neue Erfolge erwarten dürfen".

Auf Anregung von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Flügge habe ich daher versucht, eine Methode zu finden, welche auch kleinste Truppenverbände in die Lage versetzt, sich selbst an Ort und Stelle in kürzester Zeit ein schmackhaftes, bekömmliches und jede Infektionsgefahr ausschließendes Trinkwasser zu bereiten.

Mit Recht verlangt Hetsch von einem in der Praxis brauchbaren Wassersterilisationsverfahren, daß es bei kurzer Einwirkungsdauer die für den Menschen pathogenen Mikroorganismen, welche durch Trinkwasser verbreitet werden können — in erster Linie also Typhus- und Ruhrbazillen sowie Choleravibrionen — sicher vernichtet, das Wasser in seinem Aussehen, Geschmack und Geruch nicht wesentlich beeinflußt und in demselben keine Substanzen zurückläßt, welche auch beim Genuß größerer Quantitäten für die Gesundheit irgendwie schädlich sind. Zudem soll das Verfahren einfach und leicht anwendbar sein, die benötigten Ingredienzien sollen lange Zeit in unverändertem Zustande haltbar, nicht teuer sein und beim Transport nicht viel Raum beanspruchen.

Wenn in den zahlreichen Arbeiten, welche sich mit der Frage der chemischen bzw. physikalischen Trinkwassersterilisation beschäftigen, häufig so verschiedene Resultate erzielt worden sind, so liegt die Ursache hauptsächlich darin, daß das Material, an welchem das Verfahren geprüft wurde, verschieden war und daher bald größere, bald geringere Anforderungen an das Sterilisationsverfahren stellte. Die Schwierigkeit derartiger Prüfungen beginnt eben bereits bei Beantwortung der Frage, welche Mengen von künstlicher Bakterieneinsaat und welche chemische und physikalische Beschaffenheit des Wassers wir wählen müssen, um den schwierigsten in der Natur vorkommenden Verhältnissen Rechnung zu tragen. Wenn auch erfahrungsgemäß die Krankheitserreger zum größten Teil im Wasser schnell zugrunde gehen, so muß doch in der Praxis damit gerechnet werden, daß z. B. Typhusdejekte kurze Zeit vor der Entnahme in das Wasser gelangt sind. Andererseits kann der Gehalt des zu desinfizierenden Wassers an organischer Substanz für den Desinfektionseffekt von ausschlaggebender Bedeutung sein, indem durch Oxydation derselben ein Teil des Desinfektionsmittels verbraucht wird. Vor allem aber nehmen die im Wasser vorhandenen Schwebeteilchen rein physikalisch einen Teil des Desinfektionsmittels infolge der eintretenden Oberflächenspannung so sehr in Beschlag, daß die physikalische Beschaffen-

heit des zu sterilisierenden Wassers die wichtigste Rolle spielt. Wiederholt habe ich mich in Versuchen davon überzeugen können, daß man z. B. mit dem Schumburgschen Bromverfahren wesentlich bessere Resultate erzielt, wenn man Spreewasser vor Einbringen der Colikeime durch Zusatz von schwefelsaurer Tonerde mit nachfolgender Filtration vorklärt, indem nun die Bakterien als einzig vorhandene Formelemente das Desinfektionsmittel infolge Oberflächenanziehung auf sich konzentrieren.

Um nun meine Versuchsanordnung von vornherein so schwierig zu gestalten, daß sie auch praktischen Forderungen standhielt, benutzte ich bei allen Versuchen Spreewasser, welches in der Nähe der Marschallbrücke, wo stets Schiffe lagern, jedesmal frisch entnommen wurde und außer massenhaften Schwebeteilchen bereits 20000 bis 100000 Keime im Kubikzentimeter enthielt, und versetzte dasselbe noch pro Liter mit einer 24stündigen, **unfiltrierten** Schrägagarkultur (etwa 750000000 Keime) von Bacterium coli, einer Einsaat, welche diejenige, an der Hetsch die chemischen Verfahren nachprüfte, ohne ein praktisch brauchbares zu finden, um das 10 bis 100fache übertrifft. Das derart verunreinigte Wasser enthielt so viel organische Substanz, daß 20 ^{mg} Sauerstoff pro Liter zur Oxydation erforderlich waren. Diese Sauerstoffmenge entspricht einem Gehalt von 400 ^{mg} organischer Substanz im Liter, während brauchbares Grundwasser z. B. im Maximum nur 40 ^{mg} organischer Substanz pro Liter enthält. Mit einem derart verunreinigten Wasser dürfte also wohl auch den in der Natur zu erwartenden, schwierigsten Verhältnissen so weit Rechnung getragen sein, daß ein an solchem Testmaterial geprüftes Verfahren den strengsten Anforderungen Genüge leistet, welche man an ein Desinfektionsverfahren stellen kann.

Welche Anforderungen nun dieses Testmaterial an ein Desinfektionsmittel stellt, prüfte ich zunächst an dem Schumburgschen Bromverfahren und zwar mit den Reagentien der Oranienapotheke nach der von Schüder geforderten Versuchsanordnung. Selbst die vierfache der von Schumburg angegebenen Bromdosis (0·24 ^{ccm} pro Liter) vermochte auch in der doppelten Zeit (10 Minuten) nicht die Colikeime abzutöten. Erst wenn ich das mit Bacterium coli infizierte Spreewasser in der oben angegebenen Weise vorklärte, trat der Desinfektionseffekt zutage. Der Erfolg war jedoch immer noch unsicher. So töteten 0·12 ^{ccm} Brom pro Liter in 10 Minuten dreimal die eingebrachten Colikeime ab, fünfmal nicht. Erst 0·18 ^{ccm} Brom pro Liter vernichteten in 10 Minuten oder 0·24 ^{ccm} Brom pro Liter in 5 Minuten in acht angestellten Versuchen alle Colikeime. Annähernd den gleichen Effekt erzielte ich jedoch, wie erwähnt, auch dann, wenn ich das Spreewasser nicht nach, sondern vor Einbringen der Colikeime vorklärte. In je acht derart angestellten Versuchen trat



1 mal bei 0·12 ccm Brom und 10 Minuten langer Einwirkung
2 „ „ 0·18 „ „ „ 10 „ „ „
4 „ „ 0·24 „ „ „ 5 „ „ „

keine Keimentwicklung mehr ein. Da die Versuchsanordnung in beiden Versuchsreihen sonst absolut gleich war, glaube ich dieses Resultat mit Recht darauf zurückführen zu können, daß bereits das Entfernen der Schwebeteilchen für das Desinfektionsmittel günstigere Bedingungen schafft.

Auf Grund dieser Versuche und der zahlreichen in der Literatur angegebenen,[1] aber nicht anerkannten Verfahren, sei es nun, daß es sich um Filtration oder Desinfektion handelte, kam ich zu der Vorstellung, daß das Ziel einer schnellen Bereitung keimfreien Trinkwassers nur durch eine Vereinigung beider Verfahren zu erreichen sei.

Man kann wohl hoffen, in der kurzen Zeit von 10 bis 15 Minuten (längere Zeit kommt praktisch nicht in Frage) die einzelnen oder in kleinen Verbänden im Wasser suspendierten Mikroorganismen auf chemischem Wege abzutöten, es scheint aber von vornherein aussichtslos, auf diese Weise auch an die Keime heranzukommen, welche geschützt im Innern von Stuhlpartikelchen liegen oder von sonstigen Substanzen eingehüllt sind. Andererseits sind es bei der Filtration vermutlich gerade wieder die freischwebenden Mikroorganismen, welche durch die Filterporen hindurchschlüpfen, während die zu Klümpchen geballten oder in Klümpchen eingehüllten Keime leichter zurückgehalten werden. Von einer Filtration des Wassers wird man aber in den meisten Fällen sowieso nicht absehen können, weil das verdächtige Wasser trübe ist; denn dem Soldaten wird sich von vornherein mehr das Wasser empfehlen, welches klar und appetitlich aussieht, als das, welches zwar keimfrei sein soll, aber trübe ist und unappetitlich wirkt. Bei Anwendung chemischer Mittel ist andererseits so gut wie sicher damit zu rechnen, daß Niederschläge im Wasser auftreten, welche dann doch eine Filtration erfordern. Da eine doppelte Filtration aber schon durch den Mangel an Zeit verboten wird, ist von einem praktisch brauchbaren Verfahren zu verlangen, daß es durch Zusatz eines chemischen Mittels in das rohe, nicht vorgeklärte Wasser 1. die freischwebenden, bei der nachfolgenden Filtration durchschlüpfenden Mikroorganismen abtötet; und 2. die durch die chemische Desinfektion nicht abgetöteten Keimklümpchen sicher einhüllt und so auf dem Filter zurückhält.

---

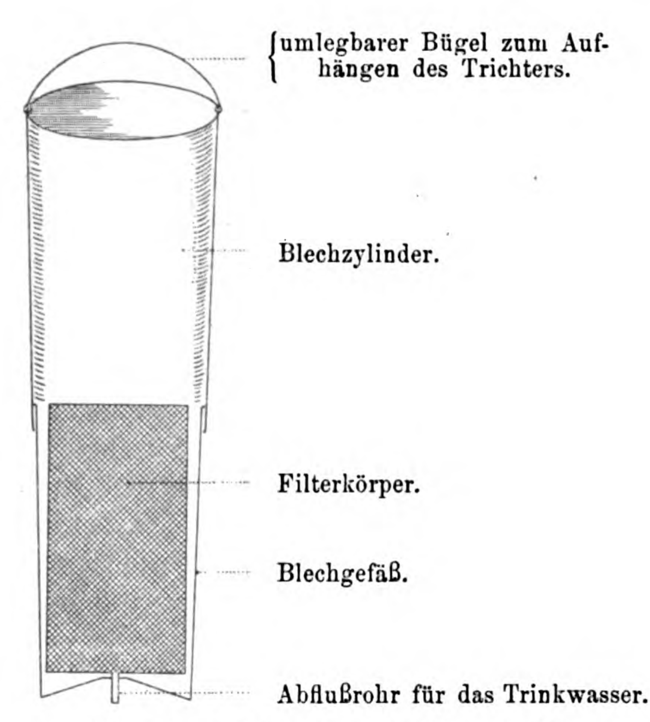
[1] Eine sehr vollständige Übersicht der Wasserreinigungsverfahren gibt Selberg in der *Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medizin.* 1913. Bd. XLVI. Hft. 2 u. 3.

Filtrierverfahren: Da der einzige in die Armee eingeführte Filter, der von Eben konstruierte Berkefeld-Armeefilter, abgesehen von seiner Durchlässigkeit für Keime, wegen seiner Empfindlichkeit, seinem Versagen bei stärker getrübtem Wasser, seiner umständlichen Reinigung und der dauernd notwendigen bakteriologischen Kontrolle für Feldverhältnisse nicht geeignet ist, wie der südwestafrikanische Feldzug zur Genüge bewiesen hat, sah ich mich zunächst nach einem brauchbaren Filtergewebe um und wurde dabei auf einen Trinkwasserfilter aufmerksam, welcher als Haushaltungsfilter gute Dienste leisten sollte und, nach dem Gewebe des Filterkörpers zu schließen, für Feldverhältnisse gut geeignet schien. Es handelt sich um die sogenannnten Sucrofilter, deren Filterkörper aus einem Asbestgewebe besteht, welches nach einem patentierten Verfahren mit einem, im wesentlichen aus Marmor, Asbestwolle und Silikaten hergestellten Brei in der Hitze bei 200° imprägniert wird. Da es also einerseits möglich schien, die Sterilisation der Filterkörper, nachdem sie durch Ausbürsten gereinigt sind, einfach durch Ausglühen am offenen Feuer zu bewerkstelligen, und andererseits eine Zerstörung des Filtergewebes — selbst bei den unvermeidlichen Insulten im Felde — nicht so leicht zu befürchten war, prüfte ich diese Sucrofilter auf ihr Wasserreinigungsvermögen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war durchaus ermutigend. Spreewasser, welches in der angegebenen Weise mit Bacterium coli infiziert und dadurch stark getrübt wurde, lief, durch den Sucrofilter gegossen, kristallklar ab und zeigte auch eine ganz erhebliche Keimverminderung; durchschnittlich ging von 4000 Keimen erst einer durch das Filtergewebe hindurch.

Da ein bei der Firma vorhandenes Armeefiltermodell für Feldverhältnisse durchaus ungeeignet war, ging ich zunächst daran, einen diesen Verhältnissen angepaßten Filter zu konstruieren. Die von der Firma bisher angefertigten Apparate waren als Reservoirfilter gedacht und trugen am Filterkörper daher neben dem unten befindlichen Ausflußrohr für das filtrierte Wasser noch ein nach oben über die Wasserfläche hinausgeführtes Luftrohr, um eine Ansammlung des filtrierten Wassers bei geöffnetem Lufthahn zu ermöglichen, selbst wenn der Wasserausflußhahn geschlossen war. Durch dieses Luftrohr war aber erstens die Gefahr einer Infektion des Filterinneren vorhanden und außerdem war die Filterleistung beschränkt, da die Höhe des Spiegels des zu filtrierenden Wassers durch den Hahn am Luftrohr vorgeschrieben wurde. Da es sich unter Feldverhältnissen nur darum handelt, im Bedarfsfalle zu filtrieren, aber nicht ein Wasserreservoir mitzuführen, ließ ich das Luftrohr fort und auch den Hahn am Wasserausflußrohr, welches ich so weit machen ließ, daß die von dem Wasser aus dem Filterinneren zu verdrängende Luft mit dem Wasser



zugleich aus demselben abströmen konnte. Hierdurch gewann ich nun zugleich die Möglichkeit, durch Verlängerung des Wasseraufnahmegefäßes nach oben über den Filterkörper hinaus die Filterleistung zu erhöhen, da ich jetzt mit dem Druck einer Wassersäule von etwa 20 cm arbeiten konnte. In diesem Zustande war der Filter jedoch nicht transportabel, so daß es nötig wurde, die Verlängerung durch einen teleskopartig ausziehbaren Blechzylinder zu ersetzen. Da bei ovaler Form des Gefäßes



Sucro-Armeefilter (1/4 natürlicher Größe).
Zum Gebrauch ausgezogen, Querschnitt (schematisch).

das wasserdichte Anliegen des ausgezogenen Zylinders nicht zu garantieren war, mußte ich eine runde Form für den Filter wählen.

Der aus diesen Versuchen resultierende Armeefilter hat sich unter der Praxis angepaßten Verhältnissen bewährt. Er ist so abgemessen, daß er in einem runden Kochgeschirr von 22 cm Höhe und 11 cm Durchmesser untergebracht werden kann. Er besteht aus einem runden Blechgefäß, welches am Boden festgeschraubt, den Filterkörper enthält. Das Blechgefäß wird von einem Blechzylinder umschlossen, welcher demselben so angepaßt ist, daß er beim Herausziehen das Blechgefäß wasserdicht abschließend, dieses um 20 cm nach oben verlängert und so einen Behälter zur Aufnahme des zu filtrierenden Wassers schafft.

Der Filter wiegt, aus Aluminiumblech hergestellt, 1 kg und liefert bei der Beschickung mit dem infizierten Spreewasser bei ständigem Nachgießen in 5 Minuten 1 bis $1^1/_2$ Liter kristallklares Wasser. Diese Filterleistung wird sich bei Anfertigung der Filterkörper im großen noch erhöhen, da es dann technisch möglich ist, die Filterkörper aus einem Stück (strumpfartig) zu weben, so daß die bei dem Probemodell noch vorhandenen Nähte fortfallen. Die Filterfläche wird dadurch um etwa 100 qcm größer.

Die Keimzahl des Filtrates schwankt wie bei allen Filtern, je nachdem der Filter frisch gereinigt ist oder schon längere Zeit im Gebrauch war, wodurch bei geringerer Ergiebigkeit niedrigere Keimzahlen erzielt werden. Ein keimfreies Filtrat wurde jedoch nie erreicht und zwar auch dann nicht, wenn ich die Filterkraft durch Zusatz von Fällungsmitteln noch erhöhte. Außer den bekannten Substanzen, wie Aluminiumsulfat, Calcium- und Eisenverbindungen benutzte ich auch geschlemmte Kieselgurerde und ein von einer österreichischen Ceresinfabrik empfohlenes Mittel, welches eine stark bakterienbindende Kraft besitzen sollte und den Namen „Macanit“ führt. Zwar gelingt es auf diese Weise unter mehr oder weniger herabgesetzter Ergiebigkeit die Keimdichtigkeit der Filtermasse so zu erhöhen, daß man auch einmal in 1 ccm des Filtrates keinen Keim findet, aber bei einer Probe von 100 ccm und Anreicherung habe ich stets Keime nachweisen können.

Die Versuche, einfach durch eine Filtration zu einem keimfreien Trinkwasser zu gelangen, führten also, wie auch nicht anders zu erwarten war, zu keinem Resultat.

Chemisches Verfahren: Daher versuchte ich nunmehr ein chemisches Mittel zu finden, welches, wenn auch nicht die in Klümpchen eingehüllten Keime, so doch wenigstens diejenigen mit Sicherheit in meinem infizierten Spreewasser abtöten sollte, welche, weil freischwebend, bei einer nachfolgenden Filtration nicht zurückgehalten würden.

Da sich bei den von Hetsch angestellten Nachprüfungen der zahlreichen empfohlenen chemischen Präparate nur noch das Wasserstoffsuperoxyd einigermaßen bewährt hatte, entschloß ich mich dazu, dieses gleichfalls zu prüfen, vor allem auch, weil ich auf ein neues Präparat aufmerksam geworden war, welches von der Firma Bayer & Co (Elberfeld) hergestellt wird. Dasselbe ist ein festes Wasserstoffsuperoxyd (36 prozentig) und zwar eine Additionsverbindung von Carbamid und Wasserstoffsuperoxyd, Ozuron genannt. Ich suchte zunächst festzustellen, wie sich dieses Präparat den von mir angewandten Einsaatmengen gegenüber bei 5 bzw. 10 Minuten dauernder Einwirkung verhielt. Zu diesem Zwecke verteilte ich 1 Liter Spreewasser + eine Kultur Bakterium coli auf 20 Erlenmeyer-

kölbchen so, daß jedes Kölbchen 50^{ccm} enthielt. Dann fügte ich von einer 6 prozentigen, aus dem Ozuron hergestellten Wasserstoffsuperoxydlösung so viel in die einzelnen Kölbchen hinzu, daß ich 1 promillige bis 1 prozentige Lösungen bekam und zwar von jeder Konzentration 2 Kölbchen. Nach 5 bzw. 10 Minuten wurde das Wasserstoffsuperoxyd dadurch zerstört, daß fein gepulverter, steriler Braunstein (1^{grm} auf 50^{ccm}) hineingeschüttet und durch sterile Papierfilter filtriert wurde. Durch Titration mit Kaliumpermanganatlösung ($^1/_{10}$ n.) überzeugte ich mich, daß auch aus der stärksten Lösung alles Wasserstoffsuperoxyd vernichtet war. Von dem Filtrat wurde 1^{ccm} zur Gelatineplatte verarbeitet, und die Platten nach 8 Tagen ausgezählt. Das Resultat ergibt folgende Tabelle:

Einwirkungs-dauer	Wasserstoffsuperoxydlösung									
	1 ‰	2 ‰	3 ‰	4 ‰	5 ‰	6 ‰	7 ‰	8 ‰	9 ‰	1 %
	Keime									
5 Minuten .	10	8	4	1	1	1	0	0	0	0
10 „ .	18	4	4	2	0	0	0	0	0	0

Danach konnte ich also eine 1prozentige Wasserstoffsuperoxydlösung bei einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten als sicher abtötende Dosis meiner Einsaat gegenüber ansehen, entsprechend der von Traugott stammenden Angabe, daß Typhusbazillen in 1 prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung in 5 Minuten zu Grunde gehen. Eine Konzentration von 1 Prozent hätte aber etwa 30^{grm} Ozuron pro Liter gefordert und kam daher praktisch nicht in Frage. Da jedoch beim Einbringen des Braunsteins auffiel, daß auch in der schwächsten Lösung noch erhebliche Mengen von Wasserstoffsuperoxyd unverbraucht geblieben waren, lag der Gedanke nahe, zu versuchen, ob nicht auch geringere Mengen von Wasserstoffsuperoxyd einen Effekt zeigen würden, wenn es nur gelänge, die Einwirkung desselben auf die Keime zu fördern. Dazu war jedoch zunächst die Frage zu klären, worauf die keimtötende Kraft des Wasserstoffsuperoxyds überhaupt beruht.

Das Wasserstoffsuperoxyd steht chemisch dem Sauerstoff, speziell in seiner aktiven Form als Ozon O_3 nahe, da es wie dieses auch ein nur lose gebundenes O-Atom besitzt. Während das Ozon jedoch dieses O-Atom schon spontan abgibt, muß es in dem Wasserstoffsuperoxyd erst abgespalten werden, um seine oxydierende bzw. desinfizierende Wirkung ausüben zu können. Diese Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds kann nun jedoch in verschiedener Weise erfolgen. So rufen z. B. einige Superoxyde, wie Braunstein (MnO_2), eine augenblickliche, stürmische Sauerstoffentwicklung hervor, indem sie das Wasserstoffsuperoxyd nach der Formel

$$2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$$



zerlegen. Dieser „Katalyse“ genannte Vorgang wird nun auch durch gewisse Fermente („Katalase“ oder „Superoxydase“ nach Raudnitz) ausgelöst, welche nach den Untersuchungen Jorns auch von den Bakterien produziert werden. Diese Fermente haben demnach die Aufgabe, aus den Peroxyden den molekularen Sauerstoff abzuspalten und so der Zelle zur Verfügung zu stellen oder auch einen schädlichen Überschuß an Peroxyden auf diese Weise im Notfalle sofort zu beseitigen, um das lebende Zellprotoplasma zu schützen. Von dieser katalytischen Wirkung der Bakterien kann man sich in der Weise leicht überzeugen, daß man eine Aufschwemmung derselben zu einer Wasserstoffsuperoxydlösung hinzugibt. Man beobachtet dann in der Lösung eine mehr oder weniger starke Gasbildung. Der molekulare d. h. inaktive Sauerstoff O-O übt aber auch in statu nascendi keine keimtötende Wirkung aus. Zerstört man nämlich sofort nach dem Einbringen das Wasserstoffsuperoxyd wieder durch Braunstein, wobei der ganze aus demselben zu erhaltende Sauerstoff frei wird, wodurch die Flüssigkeit stark aufschäumt, so findet keine merkliche Abtötung der Keime statt. Die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds ist demnach nur so zu denken, daß dasselbe, im Ueberschuß vorhanden, zunächst die Bakterienkatalase absättigt, sich dann an der Oberfläche der Bakterien konzentriert und nun durch Abspaltung von atomistischem Sauerstoff O nach der Formel

$$H_2O_2 = H_2O + O$$

eine chemische Wirkung auf das Protoplasma ausübt.

Eine Unterstützung der Desinfektionswirkung des Wasserstoffsuperoxyds wäre also in der Weise denkbar, daß man diese Abspaltung atomistischen Sauerstoffs in unmittelbarer Verbindung mit der Zelle förderte.

Zu einer derartigen Beschleunigung eines chemischen Vorganges konnten die in der Chemie als Katalysatoren bekannten Stoffe geeignet sein, sofern sie nicht wie Braunstein z. B. die Zerlegung des Wassersuperoxyds in molekularen Sauerstoff bewirken. Das auch normalerweise im Wasser vorkommende schwefelsaure Eisenoxydul ($FeSO_4$) schien mir für meine Zwecke am geeignetsten, da es im Wasser leicht löslich ist und beim Zusatz oxydierender Mittel in unlösliches basisches Ferrisulfat übergeht. Da nach Gottstein die Nukleoalbumine durch Wasserstoffsuperoxyd besonders leicht oxydiert werden, schien es möglich, daß das unter der Einwirkung des schwefelsauren Eisenoxyduls aus dem Wasserstoffsuperoxyd sich abspaltende O-Atom in statu nascendi die Bakterien leichter angreift als die anorganische Substanz.

In 50 nach dieser Richtung hin angestellten Versuchen habe ich eine Bestätigung dieser Vermutung erfahren, wenn auch nicht bis zu dem Grade, daß eine Verwendung des Verfahrens in der Praxis möglich wurde.

Denn wenn auch der Filterrückstand stets Colikeime enthielt, so konnte ich doch in 12 Prozent der Versuche auch mit Hilfe des Anreicherungsverfahrens im Filtrat keine Colikeime mehr nachweisen. Dieser Erfolg, den ich bei meinen Filtrationsversuchen früher nie erreichte, ist also sicher nicht nur auf physikalische Einflüsse (Niederschlagswirkung) zurückzuführen, sondern auf eine Oxydationswirkung des Wasserstoffsuperoxyds, obgleich ich dasselbe nur in 0·4 bis 0·8 promilliger statt in 1 prozentiger Lösung anwandte, aber 1 bis 2 ^{grm} Ferrosulfat pro Liter zusetzte; die Einwirkungsdauer betrug bei allen Versuchen zehn Minuten. Der bereits bei den angewandten Mengen von Ferrosulfat im Filtrat auftretende Eisengeschmack verbot die auch sonst wenig aussichtsreiche Anwendung höherer Dosen, so daß ich die Versuche abbrach.

Es blieb nun noch ein Weg, welcher zum Ziele führen konnte, indem man auf das Wasserstoffsuperoxyd als Desinfektionsmittel verzichtete und nur seine Eigenschaft als kräftiges Oxydations- und Reduktionsmittel benutzte, um andere Desinfektionsmittel nach stattgehabter Einwirkung wieder zu vernichten.

Mit Chlorkalk und Jodtrichlorid angestellte Versuche versagten, da es nicht gelang, das Desinfektionsmittel restlos aus dem Wasser zu entfernen. Auch in den günstigsten Fällen blieb ein leichter Arzneigeschmack zurück, welcher den Genuß des Wassers verhinderte. Der Chlorkalk ist überhaupt wegen seines wechselnden Chlorgehaltes und seiner schweren Löslichkeit ein sehr fragliches Wasserdesinfektionsmittel und versagte den von mir angewandten Einsaatmengen gegenüber in den praktisch möglichen Konzentrationen durchaus, während das Jodtrichlorid in 2 promilliger Lösung gut desinfizierte, aber dem Wasser einen nicht zu beseitigenden Arzneigeschmack verlieh.

Da ich bei meinen Titrationen der Wasserstoffsuperoxydlösungen eine Kaliumpermanganatlösung benutzte, lag der Gedanke nahe, auch dieses Präparat zur Wasserdesinfektion heranzuziehen, um es nachträglich durch Wasserstoffsuperoxyd zu zerstören.

Das Kaliumpermanganat wird ja bereits mit gutem Erfolg zur Vorklärung benutzt; eine vollständige Sterilisierung von Oberflächenwasser war aber nur mit großen Mengen und mehrtägiger Behandlung zu erzielen, so daß dem Verfahren eine praktische Bedeutung bisher nicht zukam, auch nicht in der von französischer Seite empfohlenen Kombination mit Eisen- oder Mangansulfat, welcher auch Glaser speziell für militärische Zwecke das Wort redet. Die Desinfektionswirkung des Kaliumpermanganats beruht auf seiner Abgabe von Sauerstoff und der dabei stattfindenden Umsetzung zu Braunstein, welcher mechanisch fällend wirkt, so daß bis 98 Prozent der Keime aus dem Wasser verschwinden sollen (Reichel).



Nach anfänglich in bakteriologischer Beziehung nicht befriedigenden Resultaten gelang es mir durch Kombination des Kaliumpermanganats mit dem wiederum als Katalysator wirkenden Ferrosulfat zu gleichen Teilen bei einem Zusatz von 1^{grm} pro Liter und 10 Minuten dauernder Einwirkung ein klares, schmackhaftes und colifreies Wasser zu erzielen, nachdem ich die angewandten Chemikalien durch 1^{grm} festes Wasserstoffsuperoxyd pro Liter (0·36 Prozent) in Braunstein und unlösliches Ferrisulfat übergeführt und filtriert hatte. Da auch der auf dem Filter zurückbleibende Schlamm keine Colientwicklung zeigte, wenn ich ihn direkt auf Endoplatten verarbeitete, glaubte ich bereits mein Ziel erreicht zu haben, zumal auch der mit Bouillon geschüttelte Schlamm beim Ausstreichen der stark getrübten Bouillon auf Endoplatten keine Colikeime zur Entwicklung kommen ließ. Wenn ich aber den mit der Bouillon geschüttelten Schlamm erst 24 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten hatte, konnte ich stets noch Colikeime auf der Endoplatte nachweisen. Es handelte sich also nur um eine, wenn auch sehr sichere Einhüllung der im Schlamm zurückgebliebenen Keime in den Niederschlag von Braunstein und Ferrisulfat, ohne daß jedoch der Schlamm in der Lage gewesen wäre, die eingehüllten Keime abzutöten. Wie sicher diese Einhüllung jedoch war, davon konnte ich mich dadurch überzeugen, daß ich das unfiltrierte Wasser 24 Stunden lang mit dem Schlamm in Berührung ließ, ohne daß Keime aus demselben in das Wasser übergingen.

Daß die in dem Schlamm in entwicklungsfähigem Zustande zurückbleibenden Keime nicht unbedenklich waren, stellte sich sofort heraus, als ich den Sucro-Armeefilter zur Filtration benutzte und, ohne ihn zu reinigen, 24 Stunden lang stehen ließ, um ihn dann in diesem Zustande zu einer neuen Filtration zu benutzen. Das Filtrat war dann nicht mehr colifrei, d. h. es hatte eine Infektion des Filters stattgefunden. Es durfte also unter keinen Umständen auf die Forderung verzichtet werden, auch den auf dem Filter zurückbleibenden Schlamm colifrei zu machen oder, wenn dies, was anzunehmen war, in der kurzen Zeit von 10 Minuten nicht gelang, wenigstens ein keimhemmendes Mittel in den Schlamm hinein zu bekommen, welches die Keime allmählich absterben ließ und so eine Infektion des Filtergewebes verhinderte.

Dies letztere gelang mir endlich, als ich das Ferrosulfat durch das gleichfalls katalytisch wirkende Kupfersulfat ersetzte, da nun die im Schlamm zurückbleibenden Kupferverbindungen die darin eingeschlossenen Keime allmählich abtöteten.

Um eine Nachprüfung dieser Versuche zu ermöglichen, werde ich meine Versuchsanordnung sowie die Ergebnisse eingehend besprechen und letztere der Übersicht halber in einer Tabelle zusammenstellen.



Versuchsanordnung.

4 Liter frisch entnommenes Spreewasser werden mit 4 Schrägagarröhrchen einer 24 stündigen Kultur von Bacterium coli versetzt, nachdem diese mit Spreewasser abgeschwemmt und in einem Erlenmeyerkölbchen kräftig durchgeschüttelt sind. Das so infizierte Spreewasser bleibt eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen, um eine den natürlichen Verhältnissen möglichst angepaßte Verteilung der Colikeime im Wasser zu erreichen. Dann werden die Desinfektionsmittel in Pulverform dem Wasser zugesetzt und zwar zunächst 3^{grm} Kupfersulfat und nach kräftigem Umschütteln 3^{grm} Kaliumpermanganat. Dieses löst sich wesentlich langsamer als Kupfersulfat, so daß es erforderlich ist, das Wasser während der Desinfektionszeit vor allem in den ersten Minuten in Bewegung zu halten. Nach Ablauf von 10 Minuten werden vier Tabletten à 1^{grm} festen 36 prozentigen Wasserstoffsuperoxyds hinzugetan und wiederum während der etwa 3 Minuten dauernden Zerstörung der Desinfizientien mehrmals kräftig geschüttelt. Die anfangs rotviolette Farbe der Flüssigkeit geht dabei allmählich in ein deutliches Braun über und beweist so, daß alles Kupfersulfat und Kaliumpermanganat zerstört ist. Der Soldat hat also in diesem auch für das ungeübte Auge leicht wahrnehmbaren Farbenumschlag ein untrügliches Zeichen, daß alle gesundheitsschädlichen Substanzen aus dem Wasser entfernt sind. Zugleich mit dem Farbenumschlag tritt in dem Wasser ein dichter voluminöser Niederschlag auf, welcher sich sehr schnell zu Boden senkt. Nunmehr wird das Wasser durch den vorher im Autoklaven sterilisierten Sucro-Filter gegossen und läuft, nachdem das erste Wasser die im Filtergewebe infolge der voraufgegangenen Erhitzung veraschten Rückstände herausgeschwemmt hat, kristallklar im Strahl ab. Die Filterleistung, welche sich bei ständigem Nachgießen nicht wesentlich ändert, beträgt in 4 bis 5 Minuten einen Liter. Das abgelaufene Wasser, auch der erste Strahl, wird halbliterweise aufgefangen und durch Zusatz stark alkalischer 10 prozentiger Traubenzuckerpeptonlösung in schwach alkalische 1 prozentige Traubenzuckerpeptonlösung verwandelt und 24 Stunden bei 37^{0} bebrütet. Von jedem der bebrüteten Peptonwasserkolben wird dann eine große Platinöse voll auf Endoplatten ausgestrichen, und das Resultat nach 24 stündigem Aufenthalt der Platten im Brutschrank verwertet. Außerdem werden viermal je drei große Platinösen des auf dem Filterkörper zurückgebliebenen Schlammes in Bouillonröhrchen gebracht, kräftig geschüttelt und nach 24 stündigem Bebrüten gleichfalls mittels Endoplatten auf Bacterium coli geprüft. Um absolut sicher zu sein, daß in dem Filtrat keine Stoffe mehr vorhanden waren, welche keimhemmend wirken konnten, prüfte ich das Filtrat jedesmal auf seinen Gehalt an Wasserstoffsuperoxyd, da sich bei meinen Versuchen herausgestellt hatte, daß die spontane Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds in den Nährböden keineswegs so schnell erfolgt, wie einige Autoren (Schmidt, Croner) annehmen. Ich konnte mehrfach durch vergleichende Titrationen mit Kaliumpermanganatlösungen nachweisen, daß in einer Lösung, welche außer der Bakterieneinsaat 0·5 promilligen Wasserstoffsuperoxyd und 1 prozentigen Traubenzuckerpepton enthielt, noch nach 24 Stunden $^{3}/_{4}$ des Wasserstoffsuperoxyds vorhanden waren. Derselbe kann also auch in der an organischer Substanz reichen Nährlösung sich längere Zeit unzersetzt erhalten und zwar



in einer Konzentration, welche noch energisch hemmend auf das Bacteriumwachstum einwirkt. Denn eine 0·1 promillige Wasserstoffsuperoxydlösung verhindert noch jede Keimentwicklung, erst in 0·5 promilligen Lösungen gelingt es Colikeime zum Wachstum zu bringen. Bei meiner Versuchsanordnung trifft es sich daher außerordentlich günstig, daß das als Neutralisationsmittel für die Desinfizientien dienende Wasserstoffsuperoxyd durch den entstehenden Braunstein zerstört wird, so daß es unbedenklich im Überschuß zugesetzt werden kann, ein Vorteil, welchen kein anderes chemisches Verfahren besitzt. Wie groß dieser Vorteil ist, geht aus folgender Erwägung hervor, deren Richtigkeit sich in zahlreichen Versuchen ergeben hat. Bei dem wechselnden Gehalt des zu desinfizierenden Wassers an organischer Substanz im allgemeinen und Bakterien im besonderen, ist es durchaus notwendig, mit einem Sicherheitszuschlag zu arbeiten, d. h. also das Desinfektionsmittel im Überschuß zuzusetzen. Da nun ferner der Verbrauch des Desinfektionsmittels von dem Gehalt des Wassers an organischer Substanz abhängig ist, muß auch das Neutralisationsmittel wieder im Überschuß zugegeben werden, um mit Sicherheit alle gesundheitsschädlichen Stoffe zu zerstören, d. h. es muß im Wasser in einer gewissen Konzentration zurückbleiben und macht damit das Verfahren eben unbrauchbar. Aus diesem Grunde müssen alle die Verfahren schon als praktisch unbrauchbar bezeichnet werden, welche mit einem nach dem Äquivalentgewicht errechneten Zusatz von Desinfiziens und Neutralisationsmittel arbeiten, da eine derartig genau auf einander eingestellte gegenseitige Absättigung eben nur in der Theorie besteht, wie jeder zu seiner Enttäuschung erfährt, wenn einmal das Desinfektionsmittel, das andere Mal wieder das Neutralisationsmittel im Wasser zurückbleibt.

Bei meiner Versuchsanordnung ist das Neutralisationsmittel an sich unschädlich, verleiht jedoch in höheren Konzentrationen dem Wasser einen laugenhaften Geschmack. Es ist aber, wenn überhaupt, nur in Spuren im Filtrat nachzuweisen, welche mit 0·05 Promille weit unter der Schmeckbarkeitsgrenze liegen und, wie erwähnt, auch keine bakterienschädigenden Einflüsse mehr ausüben können. Zur Sicherheit impfte ich jedoch bei jedem Versuch ein Erlenmeyerkölbchen von dem zur Peptonlösung umgewandelten Filtrat mit einer Nadelspitze voll Bacterium coli, welches sich stets reichlich vermehrte.

Versuchsergebnisse.

Die in nachfolgender Tabelle zusammengestellten 38 Versuche veranschaulichen den Gang der Untersuchung und ermöglichen die erzielten Ergebnisse auch auf ihren praktischen Wert hin zu prüfen. Zur Erklärung der angewandten Zeichen und Abkürzungen bemerke ich folgendes:



W. bedeutet, daß die Filtration des Wassers nach dem chemischen Verfahren nur durch einen sterilen Wattebausch erfolgte, welcher in einen Glastrichter hineingepreßt worden war.

S. bedeutet den Sucro-Armeefilter; mit einem kleinen *s* dahinter besagt, daß der Filter zu diesem Versuch frisch im Autoklaven sterilisiert worden war.

S. mit einer Zahl dahinter gibt an, zum wievielten Male der Filter benutzt wurde, ohne inzwischen gereinigt worden zu sein.

+ = Bacterium coli gewachsen.

(+) = „ „ „ , aber in seinen Lebensäußerungen geschwächt.

— = Bacterium coli nicht gewachsen, aber Sporenbildner.

0 = steril.

Die ersten 12 Versuche dienten dazu, die zur Abtötung der Colikeime notwendigen Konzentrationen zu ermitteln. Den Wattebausch benutzte ich nur der Einfachheit halber zur Filtration, da ich ja sicher sein konnte, daß der Sucrofilter dieser provisorischen Methode überlegen war. Da es natürlich nicht möglich war, den Wattebausch stets gleich fest zusammenzudrücken, geschah es nicht selten, daß der erste Ablauf nicht völlig klar war. Dann wurde derselbe noch einmal zurückgegossen, aber in dasselbe Gefäß weiter filtriert, so daß etwa im ersten Ablauf mit durchgegangene Keime das Gefäß infizieren mußten.

Das benutzte feste Wasserstoffsuperoxyd wurde mir von drei verschiedenen Firmen zur Verfügung gestellt, bestand jedoch stets, wie erwähnt, aus einer Additionsverbindung von Karbamid und Wasserstoffsuperoxyd mit 36prozentigem Gehalt an letzterem. Die verwendeten Präparate waren 1. Perhydrit in Tablettenform von der Firma E. Merck, Darmstadt; 2. Hyperol in Tabletten- und Pulverform von der Firma Gedeon Richter, Budapest; 3. das inzwischen in Ortizon umgetaufte Ozuron der Firma Friedr. Bayer & Co., Elberfeld, in Tabletten- und granulierter Form. Über die Haltbarkeit dieser Präparate äußern sich die Firmen folgendermaßen:

E. Merck: „Nach den seither gemachten Feststellungen ist das Perhydrit in Substanz und Tablettenform verhältnismäßig sehr lange Zeit haltbar.“

Gedeon Richter: „Die Haltbarkeit der Tabletten ist eine unbegrenzte, außer in den Tropengegenden, wo die große Hitze eine geringe Zersetzung herbeiführt.“



Tabelle I.

Nummer	Art des Wassers	Liter	Coli pro Liter	$CuSO_4$ pro Liter in grm	Minuten	$KMnO_4$ pro Liter in grm	Minuten	H_2O_2 pro Liter in grm	Minuten	Art des Filters	Angereicherte Menge	Auf Endo?	Im Schlamm?
1	Spreew.	1	1 C.	0·5	+	0·5	5	0·36	2	*W.*	1/2 Ltr.	—	+ + + +
2	„	1	1 „	0·5	+	0·5	10	0·36	2	*W.*	„ „	—	+ — + 0
3	„	1	1 „	1·0	+	1·0	5	0·72	3	*W.*	„ „	0	— 0 0 —
4	„	1	1 „	1·0	+	1·0	10	0·72	3	*W.*	„ „	0	0 0 0 0
5	„	1	1 „	1·0	+	1·0	5	0·72	3	*W.*	„ „	—	— 0 0 0
6	„	1	1 „	1·0	+	1·0	10	0·72	3	*W.*	„ „	0	0 0 0 —
7	„	2	1 „	1·0	+	1·0	5	0·72	3	*W.*	1 „	—	— — — —
8	„	2	1 „	1·0	+	1·0	10	0·72	3	*W.*	1 „	0	— 0 0 —
9	„	2	1 „	0·75	+	0·25	10	0·18	2	*W.*	1 „	+	+ — + —
10	„	2	1 „	0·75	+	0·5	10	0·36	2	*W.*	1 „	—	— — — —
11	„	2	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	2	*W.*	1 „	0	0 0 0 0
12	„	2	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	2	*W.*	1 „	0	0 0 0 0
13	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	100 ccm 100 „ 100 „	— 0 0	0 0 0 0
14	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	1/2 Ltr. „ „ „ „ „ „	— — 0 0	0 0 0 0
15	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 1.*	„ „ „ „ „ „ „ „	— 0 (+) 0	0 0 0 0
16	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 2.*	„ „ „ „ „ „ „ „	— 0 — 0	0 0 0 0
17	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 3.*	„ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	(+) — 0 0 — 0	0 0 0 0
18	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 4.*	„ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „	— — 0 0 0 0	0 0 0 0
19	Kanalw.	4	0 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	„ „ „ „ „ „ „ „	— — 0 0	0 0 0 0
20	„	4	0 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 1.*	„ „ „ „ „ „ „ „	— 0 — 0	0 0 0 0



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Nummer	Art des Wassers	Liter	Coli pro Liter	$CuSO_4$ pro Liter in grm	Minuten	$KMnO_4$ pro Liter in grm	Minuten	H_2O_2 pro Liter in grm	Minuten	Art des Filters	Angereicherte Menge	Auf Endo?	Im Schlamm?
21	Kanalw.	4	0 C.	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 2.*	½ Ltr.	0	0 0 0 0
											„ „	—	
											„ „	—	
											„ „	0	
22	Spreew.	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	—	
											„ „	0	
											„ „	—	
23	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 1.*	„ „	0	0 0 0 0
											„ „	(+)	
											„ „	0	
											„ „	0	
24	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 2.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	—	
											„ „	0	
											„ „	0	
25	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 3.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	0	
											„ „	—	
											„ „	0	
26	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	—	
											„ „	0	
											„ „	0	
27	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 1.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	0	
											„ „	0	
											„ „	0	
28	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 2.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	0	
											„ „	0	
											„ „	0	
29	„	4	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 3.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	0	
											„ „	—	
											„ „	0	
30	„	12	1 „	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 4.*	„ „	—	0 0 0 0
											„ „	—	
											n.2L. ½ Ltr.	0	
											n.3L. „ „	0	
											n.5L. „ „	0	
											n.7L. „ „	0	
											n.9L. „ „	0	
31	„	4	1 „	0·75	10	0·75	3	0·36	3	*S. s.*	½ Ltr.	+	0 0 0 0
											„ „	+	
											„ „	0	
											„ „	0	
32	„	4	1 „	1·0	+	1·0	10	0·54	3	*S. s.*	„ „	0	0 0 0 0
											„ „	—	
											„ „	—	
											„ „	0	



Tabelle I. (Fortsetzung.)

Nummer	Art des Wassers	Liter	Coli pro Liter	$CuSO_4$ pro Liter in grm	Minuten	$KMnO_4$ pro Liter in grm	Minuten	H_2O_2 pro Liter in grm	Minuten	Art des Filters	Angereicherte Menge	Auf Endo?	Im Schlamm?
33	Spreew.	4	1 C.	1·0	+	1·0	10	0·54	3	*S. 1.*	$^1/_2$ Ltr.	—	0 0 0 0
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
34	,,	4	1 ,,	1·0	+	1·0	10	0·54	3	*S. 2.*	,, ,,	0	0 0 0 0
											,, ,,	—	
											,, ,,	—	
											,, ,,	—	
35	,,	4	$^3/_4$,,	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. s.*	,, ,,	0	0 0 0 0
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
36	,,	4	$^3/_4$,,	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 1.*	,, ,,	—	0 0 0 0
											,, ,,	—	
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
37	,,	4	$^3/_4$,,	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 2.*	,, ,,	—	0 0 0 0
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	
38	,,	4	$^3/_4$,,	0·75	+	0·75	10	0·36	3	*S. 3.*	,, ,,	—	0 0 0 0
											,, ,,	—	
											,, ,,	0	
											,, ,,	0	

Friedr. Bayer & Co. geben ihrem Präparat in granulierter Form den Vorzug und erklären, daß die aus dem Ortizon hergestellten Tabletten zum Schutz vor Feuchtigkeit in Gläsern mit Korkstopfen aufbewahrt werden müssen.

Nach meinen Feststellungen, welche sich über $2^1/_2$ Jahre erstrecken, leisten alle Präparate, gleichviel in welcher Form, in chemischer Beziehung das gleiche. In bezug auf Haltbarkeit standen die Hyperoltabletten an erster Stelle, da sie, nur in Gläsern mit einem Wattebausch verschlossen aufbewahrt, keine Zeichen von Zersetzung aufwiesen; dasselbe gilt von den Perhydrittabletten, welche jedoch mit Korkstopfen verschlossen waren. Die nur mit einem Wattebausch abgeschlossenen Ortizontabletten waren feucht geworden, hatten jedoch ihre Form behalten.

Kupfersulfat und Kaliumpermanganat sind unbegrenzt haltbar und dürften auch der Verarbeitung zu Tabletten keine Schwierigkeiten bereiten. Der Ersatz des Kaliumpermanganats durch das viermal so leicht lösliche Calciumpermanganat wird durch die Eigenschaft des letzteren, an der Luft zu zerfließen, leider verhindert. Es käme höchstens in kri-



stallinischer Form in mit Kork gut verschlossenen Gläsern in Betracht. Zu erwägen wäre ferner noch aus Gründen der Einfachheit das Zusammenreiben von Kupfersulfat und Kaliumpermanganat zu einer Tablette.

Aus den in der Tabelle zusammengestellten Versuchen (1 bis 12) geht hervor, daß bei einer Konzentration von 0·75 Kupfersulfat + 0.75 Kaliumpermanganat pro Liter in 10 Minuten langer Einwirkung einmal diejenigen Colikeime, welche die Poren des Wattebausches passieren, mit Sicherheit abgetötet werden, und zweitens die im Schlamm zurückbleibenden Keime nicht mehr zur Entwicklung kommen. Versuch 9 zeigt im besonderen, daß der Anteil des Kaliumpermanganats an dem Desinfektionseffekt mindestens der gleiche ist wie der des Kupfersulfats. Die schon aus chemischen Gründen, nämlich zur Zerstörung des Kupfersulfats, erforderliche Verwendung der Chemikalien zu gleichen Teilen gibt also auch in bakteriologischer Beziehung das beste Resultat. Dasselbe zeigt der Versuch 31, in welchem zwar die Chemikalien zu gleichen Teilen zugefügt sind, aber verschieden lange einwirken.

Die anderen mit dem Sucro-Armeefilter angestellten Versuche sind durchaus den Feldverhältnissen angepaßt. Die zur ersten Benutzung frisch sterilisierten Filter wurden nämlich, nachdem der Rest des unfiltrierten Wassers fortgegossen war, bis zum nächsten Versuch mit dem Schlamm 24 bis 48 Stunden stehen gelassen und dann von neuem und zwar bis zu vier Malen hintereinander benutzt, ohne inzwischen irgend wie gereinigt oder gar sterilisiert worden zu sein.

Bei dieser Versuchsanordnung hätte also unter allen Umständen eine Infektion des Filtergewebes eintreten müssen, wenn die im Schlamm zurückgebliebenen Keime nicht allmählich abgestorben wären. Daß bei der Dosis von 0·75 ^{grm} Kupfersulfat + Kaliumpermanganat $\overline{aa}$ unter 66 Proben dreimal (Versuch 15, 17 und 23) Colikeime im Filtrat nachweisbar waren, gibt noch keinen Grund die Dosis zu erhöhen, da einmal die Colikeime stark geschwächt waren, wie ihre geringe Säurebildung auf den Endoplatten, ihre schwere Färbbarkeit und ihre verringerte Bewegungsfähigkeit bewiesen, und andererseits selbst im Kanalwasser in drei Versuchen (Nr. 19, 20 und 21) alle Colikeime abgetötet wurden; ein Beweis, welch überaus hohe Anforderungen das von mir angewandte Testmaterial an ein Desinfektionsverfahren stellt. Wie zu erwarten, genügt die Erhöhung der Dosis auf 1·0 ^{grm} (Versuch 32, 33, 34) oder die Herabsetzung der Einsaatmenge auf $^{3}/_{4}$ Kultur pro Liter (Versuch 35, 36, 37, 38), um das Auftreten selbst dieser geschwächten Colikeime im Filtrat mit Sicherheit zu verhindern.

Auf Grund dieser Versuche darf ich behaupten, daß es bei Anwendung dieses Verfahrens auch unter Feldverhältnissen gelingen muß



jedes **Oberflächenwasser**, das überhaupt nur als Trinkwasser in Frage kommen kann, mit Sicherheit von Colikeimen und damit auch von den in Frage kommenden **pathogenen Mikroorganismen zu befreien.**

Es erübrigt sich jedoch noch der Nachweis, daß das nach diesem Verfahren gewonnene Wasser auch als Trinkwasser zu benutzen, d. h. geschmacklos ist und keine gesundheitsschädlichen Stoffe enthält. Was den Geschmack betrifft, so kann ich nur die Urteile der Personen wiedergeben, welche das Wasser hier im Institut gekostet haben, wobei ich verschiedene Wasserproben nebeneinander trinken ließ, ohne daß die Versuchspersonen wußten, welches das nach diesem Verfahren hergestellte Wasser war. Außerdem habe ich selbst das Wasser in lauwarmem Zustande gekostet und kann nur wie alle anderen bezeugen, daß es absolut frei von jedem fremdartigen Beigeschmack ist. Es schmeckt, kühl getrunken, wie Quellwasser und wurde von verschiedenen Personen sogar dem Leitungswasser vorgezogen.

Daß diese Urteile nicht eines sachlichen Grundes entbehren, davon konnte ich mich durch die wiederholt vorgenommene chemische Untersuchung des Wassers überzeugen, welche zugleich auch den Nachweis erbrachte, daß **keine gesundheitsschädlichen Substanzen in dem Filtrat** vorhanden sind.

Bezeichnung der Wasserproben	Ungereinigt	Gereinigt
Klarheit	durch Schwebestoffe trübe	kristallklar
Durchsichtigkeit	undurchsichtig	in 45 ccm Flüssigkeitshöhe noch durchsichtig
Farbe	gelb	wasserhell
Geruch	fehlt	fehlt
Menge des Bodensatzes	10·5 mg	0
Farbe „ „	bräunlichgelb	—
Reaktion gegen Rosolsäure	alkalisch	alkalisch
Verbrauch an Kaliumpermanganat	114 mg	14 mg
Chlor	82 „	82 „
Ammoniak	deutliche Reaktion	deutliche Reaktion
Salpetrige Säure	fehlt	fehlt
Salpetersäure	„	„
Schwefelsäure	49·9 mg	258 mg
Kalk	95·0 „	64 „
Magnesia	23·0 „	50 „
Eisen	1·5 „	minimale Spur
Kupfer	nicht nachweisbar	nicht nachweisbar
Mangan	„ „	„ „
Gesamthärte (deutsche Grade)	12·72	13·4



Um jede Voreingenommenheit auszuschließen, habe ich die Untersuchung des ungereinigten und gereinigten Wassers auch von dem chemischen und bakteriologisch-mikroskopischen Institut des Dr. Aufrecht, Berlin (NW., Albrechtstraße 11) ausführen lassen; deren wesentlichste Resultate teile ich umstehend mit.

Aus dieser Untersuchung erhellt, daß mit dem bakteriologischen Effekt eine in die Augen fallende physikalische und deutlich nachweisbare chemische Reinigung Hand in Hand geht.

Besonders fällt auf, daß der Gehalt an organischer Substanz auf $^1/_8$ heruntergegangen ist. Die Zunahme des Abdampfrückstandes und des Glühverlustes bei dem gereinigten Wasser ist so zu erklären, daß die aus dem Kupfersulfat freiwerdende Schwefelsäure die im Rohwasser gelösten Kalk- und Magnesiasalze (Karbonate und Bikarbonate) in Kalksulfat und Magnesiumsulfat umwandelt und aus dem Filtergewebe Spuren von Magnesiasalzen in Lösung gehen, wie die Zunahme der Magnesia im gereinigten Wasser beweist. Im Zusammenhang damit erklärt sich auch die Zunahme der Gesamthärte. Das Eisen ist zu Ferriverbindungen oxydiert und ausgefallen.

Das Wichtigste an dem Untersuchungsbefund ist jedoch, daß in dem gereinigten Wasser keine Spuren von Kupfer oder Mangan nachweisbar, d. h. also alle zugesetzten gesundheitsschädlichen Substanzen wieder aus dem gereinigten Wasser verschwunden sind. Das günstige Urteil über die Geschmacklosigkeit des Wassers findet also seine Stütze in dem objektiven Untersuchungsbefund.

Wie ist nun der Desinfektionseffekt des Verfahrens zu erklären, und welche chemischen Umsetzungen bedingen das Verschwinden der Desinfizienten aus dem Filtrat, während der Filterschlamm noch bakterizide Eigenschaften aufweist?

Die Desinfektionswirkung ist meiner Überzeugung nach eine dreifache. Einmal wirkt das Kaliumpermanganat, wie bereits erwähnt, durch Abgabe atomistischen Sauerstoffs, zweitens das Kupfersulfat in seiner bakteriziden Eigenschaft als Kupfersalz und drittens die Kombination beider Substanzen, indem das Kupfersulfat als Katalysator die Abspaltung des atomistischen Sauerstoffs aus dem Kaliumpermanganat verstärkt.

Die desinfizierende Wirkung von Kupfersalzen ist besonders von amerikanischer Seite für Wasserversorgungsanlagen benutzt worden, und zwar nicht allein um das Algenwachstum zu verhindern, sondern auch zur Abtötung pathogener Bakterien (Moore, Kellermann, Beckwith). Clark und Gage stellten jedoch fest, daß die Desinfektionswirkung erst bei einer Konzentration von 1:1000 zuverlässig eintritt, wodurch das Wasser natürlich zum Genuß unbrauchbar wird. Da bei meinem Verfahren diese Konzentration fast erreicht wird, so ist der Anteil des Kupfer-



sulfats allein schon nicht zu unterschätzen. Von der Wirkung des Sauerstoffes und zwar in atomistischer Form überzeugt am besten der aus der Mischung der beiden Chemikalien in Wasser aufsteigende Geruch nach Ozon.

Bereits vor Zusatz des als Neutralisationsmittel dienenden Wasserstoffsuperoxyds tritt bei den Desinfizientien eine Umsetzung ein, welche sich in dem Auftreten eines geringen Niederschlages dokumentiert und, wie ich vorausschicke, ganz der gleichen Art ist, wie die durch das Wasserstoffsuperoxyd bedingte, welche die Chemikalien völlig zerstört. Das Kaliumpermanganat wird auf dem Umwege über das Manganosulfat zu Mangansuperoxyd (Braunstein) oxydiert, welches als unlöslicher Niederschlag ausfällt. Aus dem Kupfersulfat wird unter Freiwerden der Schwefelsäure Kupferoxyd, ein schwarzes, im Wasser unlösliches Pulver, welches fein verteilt in den Schlamm übergeht und die im Schlamm zurückgebliebenen Keime vernichtet.

Unter den gediegenen Metallen steht das Kupfer bekanntlich in bezug auf bakterizide Wirkung an erster Stelle, so daß Krämer auf Grund seiner Untersuchungen direkt vorschlägt, Wasser durch Kupfer zu sterilisieren. Mit Bouillonkulturen von Typhus- oder Cholerabakterien infiziertes und danach filtriertes Wasser wurde nach 2 bis 4 Stunden steril, wenn Kupferplatten oder Münzen von etwa 9 ^{qcm} Oberfläche pro Liter Wasser hineingebracht wurden. Christian, welcher die Bedeutung der gediegenen Metallle als Desinfektionsmittel eingehender untersucht hat, stellt gleichfalls fest, daß Darmkeime auf Kupfer, Messing, Zink noch niemals gefunden worden sind, wobei er die Frage offen läßt, ob die Abtötung der Keime durch gewöhnliche Giftwirkung oder auf oligodynamischem Wege zustande kommt. Daß die nach Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds auftretende massenhafte Sauerstoffentwicklung auch noch einen desinfektorischen Effekt äußert, möchte ich nach meinen Erfahrungen verneinen, da der gasförmige, molekulare Sauerstoff keine bakteriziden Eigenschaften besitzt.

Erfüllt nun dieses kombinierte chemisch-physikalische Verfahren die eingangs erwähnten an ein unter Feldverhältnissen brauchbares Wassersterilisationsverfahren zu stellenden Anforderungen?

Das Verfahren setzt den Soldaten in den Stand, sich in 15 Minuten aus stark verunreinigtem Oberflächenwasser klares, geruch- und geschmackloses Wasser herzustellen, welches frei von pathogenen Mikroorganismen und gesundheitsschädlichen Substanzen ist. Es ist einfach und leicht anwendbar, der Filter sowie die Chemikalien sind feldmäßig zu transportieren und genügend lange Zeit haltbar, wenn sie entsprechende, aber durchaus praktisch mögliche Verpackung erhalten. Die Reinigung der Filter wird allein durch die verringerte Filterleistung bedingt, die jeder sicher be-



urteilen kann, und besteht in dem Abbürsten der Filterkörper mit irgend welchem zur Verfügung stehenden Wasser und nachfolgendem Ausglühen an offenem Feuer. Will man diese Reinigung, was vielleicht ganz zweckmäßig wäre, nur dem Sanitätspersonal überlassen, so genügt es, den Filterkörper mit einer besonders geformten Mutter anzuschrauben, auf die nur ein besonderer Schlüssel paßt. Rechnet man als durchschnittliche Filterleistung in 4 Minuten 1 Liter und pro Mann $^1/_2$ Liter, so könnten in $^1/_2$ Stunde 8 Mann aus einem Filter versorgt werden. Nach bereits angestellten Versuchen ist es jedoch möglich, für das Verfahren geeignete, größere Filter herzustellen, sogar solche, welche unter Pumpendruck arbeiten und, ohne die Qualität des Wassers zu beeinträchtigen, eine ganz bedeutend größere Filterleistung aufweisen.

Literatur-Verzeichnis.

Christian, *Die Bedeutung gediegener Metalle als Desinfektionsmittel.* Berlin 1911.

Clark u. Gage, *Journ. of Inf. Dis.* 1906. Suppl. II. S. 175.

Croner, *Diese Zeitschrift.* 1909. Bd. LXIII. S. 326.

Ferrand et Lambert, *Revue d'hygiène et de police sanitaire.* 1908. Bd. XXX. S. 553.

Glaser, *Der Militärarzt.* 28. Januar 1910. S. 22.

Gottstein, Virchows *Archiv.* Bd. LXXXIII. Hft. 2.

Hetsch, *Lehrbuch der Militärhygiene.* Berlin 1910. Bd. II. S. 321.

Derselbe, *Gedenkschrift* für Dr. Rud. von Leuthold. 1906. Bd. I. S. 205.

Jorns, *Archiv f. Hygiene.* 1908. Bd. LXVII. S. 134.

Kellermann and Beckwith, *Ut. Dep. of Agricult. Bureau of Plant Industry, Bull.* Nr. 100. Part. 7. Washington 1906.

Krämer, *American Journal of Pharmacy.* 1906. Vol. LXXVIII. p. 140.

Küster, *Archiv f. Hygiene.* 1904. Bd. L. S. 364.

Moore and Kellermann, *A Method of Destroying or Preventing the Growth of Algae and certain Pathogenic Bacteria in Water Supplies.* Washington 1904.

Dieselben, *Copper as an Algicide and Desinfectant in Water Supplies.* Washington 1905.

Raudnitz, *Ergebnisse der Physiologie.* 1903. Bd. II.

Reichel, *Diese Zeitschrift.* 1908. Bd. LXI. Hft. 8.

Schmidt, *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1910. Abt. I. Bd. LV. Orig. S. 327.

Schüder, *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVII. S. 307.

Derselbe, *Ebenda.* 1902. Bd. XXXIX. S. 532.

Derselbe, *Ebenda.* 1902. Bd. XL. S. 196.

Schumburg, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. S. 145 u. 407 ff.

Traugott, *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 440.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Kristiania.]

Über experimentellen Skorbut.

II. Mitteilung.

Weitere Untersuchungen über das Konservieren und Extrahieren der spezifischen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel.

Von

Dr. **Axel Holst,** o. ö. Professor der Hygiene. und Dr. **Theodor Frölich,** Kinderarzt.

In unserer 1912 veröffentlichten Arbeit „Über experimentellen Skorbut"[1] wurde dargelegt, daß beim Meerschweinchen Skorbut entsteht, wenn der Nahrung gewisse chemische Verbindungen bisher unbekannter Natur fehlen. Weil diese Verbindungen in den sogenannten antiskorbutischen Nahrungsmitteln enthalten sind, vermögen letztere die Krankheit zu verhüten bzw. zu heilen; weil sie dagegen in den verschiedenen Getreidesorten, in Mehl und Grütze fehlen oder nur in unzulänglichen Mengen vorhanden sind, erzeugen diese Nahrungsmittel bei einseitiger Ernährung die Krankheit.

So weit gelangt, daß wir mit Sicherheit das Vorkommen derartiger Verbindungen annehmen konnten, lag es nahe zu versuchen:

1. ob wir die antiskorbutischen Nahrungsmittel in solcher Weise konservieren könnten, daß sich diese Verbindungen nach längerer Aufbewahrungszeit wirksam erhielten, und

2. ob wir auf chemischem Wege die spezifischen Bestandteile aus den antiskorbutischen Nahrungsmitteln extrahieren könnten.

[1] *Diese Zeitschrift.* 1912. Bd. LXXII.



Hinsichtlich dem Konservieren schien es zufolge unserer Versuche[1] hoffnungslos, ein solches mittels eines Kochens frischer Vegetabilien zu erzielen, weshalb wir unsere Zuflucht dazu nehmen mußten, durch vorsichtiges Trocknen zu versuchen, die antiskorbutischen Eigenschaften zu konservieren.

Vermittels zahlreicher Versuche brachten wir, wie 1912 besprochen, zunächst ins Reine, daß Löwenzahnblätter, wenn 8 Tage lang bei 37° getrocknet, schon während des Trocknens ihre antiskorbutischen Eigenschaften verlieren, und daß Karotten, selbst wenn sie ihre antiskorbutischen Eigenschaften während des Trockenprozesses nicht einbüßen, dieselben doch zum wesentlichsten Teil verlieren, wenn sie in getrocknetem Zustand einige Monate lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, gleichgültig ob sie an der Luft oder im Vakuum getrocknet, oder ob sie in verschlossenen oder offenen Behältern aufbewahrt werden.

Etwas anders gestalteten sich dagegen die Versuche mit Weißkohl, der, bei 37° getrocknet, $^1/_2$ bis 1 Jahr in offenen oder geschlossenen Behältern bei Zimmertemperatur verblieb; allerdings bekamen auch sämtliche mit Hafer und diesem Kohl gefütterten Tiere Skorbut; jedoch zeigte der in geschlossenen Behältern aufbewahrte Kohl einen entschieden günstigen Einfluß auf die mikroskopischen Veränderungen, vielleicht auch auf die Lebzeit der Tiere.

Auf dieser Grundlage — indem Kohl uns als Ausgangsmaterial diente — stellten wir unsere weiteren Versuche an.

Aus verschiedenen Gründen glaubten wir annehmen zu können, daß das bessere Resultat des in geschlossenen Behältern aufbewahrten Kohls sich vielleicht dadurch erklären ließ, daß er gegen Feuchtigkeit geschützt war.

Um diese Frage zu entscheiden, stellten wir ferner eine Reihe von Versuchen an, bei denen wir den Kohl $1^1/_2$ bzw. 6 Monate vor Beginn der Versuche in offenen Behältern im Brutschranke bei 37° stehen ließen. Diese Versuche ergaben, daß der Kohl nach $1^1/_2$ Monaten in nur unbedeutendem Maße seine antiskorbutische Wirkung eingebüßt hatte, und daß er nach 6 Monaten allerdings weniger präventiv wirkte, aber doch immerhin seine antiskorbutischen Eigenschaften in weit höherem Grade bewahrt hatte als der bei Zimmertemperatur aufbewahrte Kohl.

Wie im Jahre 1912 besprochen, fällt dies Resultat mit einer verhältnismäßig geringen relativen Feuchtigkeit der Luft im Brutschranke zusammen. Dies Ergebnis führte ferner zu folgendem 1912 besprochenen Versuche:

---

[1] A. a. O. S. 56 ff.



Eine im Thermostat bei 37° und zwar einen Monat lang getrocknete Portion Kohl wurde in zwei gleiche Teile geteilt. Beide Hälften wurden in je einem Brutschranke bei 37° und in je einem offenen Glasgefäße angebracht. Auf den Boden des einen, nicht aber des andern Gefäßes wurde Wasser gegossen, und zwar so, daß der Kohl nur einer Durchfeuchtung mit dem entwickelten Wasserdampfe, nicht aber mit dem Wasser selbst ausgesetzt wurde.

Nach Verlauf von 5 Wochen wurde eine Anzahl Meerschweinchen mit je einer dieser Portionen (+ Hafer) gefüttert, und zwar mit dem Ergebnis, daß die mit dem über Wasser stehenden Kohl gefütterten Tiere nach 27 bis 38 Tagen an ausgesprochenem Skorbut erkrankt waren, während die mit dem trockenen Kohl ernährten Tiere nach 65 Tagen, als sie geschlachtet wurden, nur ganz leichte Zeichen der Krankheit verrieten.

Eine Wiederholung des Versuches ließ den Unterschied noch schärfer hervortreten; denn die mit dem trocken gehaltenen Kohl gefütterten Tiere waren, als sie am 73. Tage getötet wurden, vollständig gesund, während die anderen binnen 48 Tagen an ausgesprochenem Skorbut starben.

Wägungen des über Wasser aufbewahrten Kohls vor und nach dem 5 wöchentlichen Aufenthalte im Brutkasten ergaben, daß er 4 bzw. 1·2 Prozent an Gewicht, bzw. an Wassergehalt zugenommen hatte, während das Gewicht des trocken gehaltenen Kohls beim ersten Versuch nur einen Anstieg von 0·4 Prozent zeigte und beim zweiten Versuch sogar abgenommen hatte; d. h. der Kohl hatte während des Aufbewahrens an Trockenheit gewonnen. Die diesmalige absolute Schutzwirkung des Kohles auf die Tiere ist aller Wahrscheinlichkeit nach diesem letzteren Umstand zuzuschreiben.

Aus diesem Versuche erhellt, daß der getrocknete Kohl, wenn er einer feuchten Luft ausgesetzt wird, seine antiskorbutischen Eigenschaften einbüßt, während sich dieselben in einer Luft, welche verhältnismäßig trocken ist, um vieles besser erhalten. Noch deutlicher tritt dies letztere in einem neuen Versuche zutage (s. Tabelle Ia), demzufolge Kohl, im Februar 1911 getrocknet und $1^1/_4$ Jahr lang im Exsikkator über H_2SO_4 aufbewahrt, ebenfalls vermochte, dem Ausbrechen der Krankheit bei unseren Versuchstieren während ca. 2—3 Monaten vorzubeugen.

In diesem neuen wie auch in den vorigen Versuchen kam der Kohl in ungekochtem Zustand zur Verwendung.

Wie gestalten sich aber die Dinge, wenn der getrocknete Kohl vor dem Füttern gekocht wird?

Mit Bezug hierauf möchten wir daran erinneren, daß frischer Kohl, wie 1912 gezeigt, durch $^1/_2$ bis 1 stündiges Kochen seine antiskorbutische Wirkung zwar etwas einbüßt, jedoch nicht mehr, als daß wir bei Ver-



abreichung dieses Kohles zusammen mit Hafer einige Tiere bis zu 153 Tagen am Leben erhalten haben, ohne daß sie Spuren der Krankheit erkennen ließen.

Aber auch frischgetrockneter Kohl zeigt sich beim Kochen höchst widerstandsfähig; in einigen unserer Versuchsreihen (Tabelle I b u. c) wurden 12 Tiere mit Hafer und frischgetrocknetem, $^1/_2$ Stunde in $^1/_2$ prozentigem Salzwasser bzw. Essigwasser gekochtem Kohl gefüttert; von diesen waren zwar 2 nach 90 bzw. 92 Tagen stark skorbutisch; als aber einige der übrigen nach 123 Tagen getötet wurden, zeigten sie keinerlei Anzeichen von Skorbut.

Dagegen geht es ganz anders, wenn der Kohl nach dem Trocknen eine längere Zeit aufbewahrt wird, selbst wenn Trocken- und Aufbewahrungsverfahren mit größter Sorgfalt beobachtet werden. Es werden dann beim Kochen die antiskorbutischen Verbindungen im Kohl so stark beeinflußt, daß die Lebzeit der Tiere nicht oder nur wenig verlängert wird, wie auch die meisten, wenn auch nicht alle Tiere beim Ableben das Bild eines ausgesprochenen Skorbuts darbieten (s. Tabelle Id—f).

Selbst wenn wir also durch sorgfältiges Trocknen mit darauffolgender Aufbewahrung bei 37° über H_2SO_4 die antiskorbutischen Eigenschaften $1^1/_4$ Jahr lang zu erhalten vermochten, bleibt uns noch erübrigt, eine Trocken- und Aufbewahrungsmethode ausfindig zu machen, bei welcher der Kohl nach dieser langen Aufbewahrungszeit ebenso thermostabil ist wie der frischgetrocknete Kohl.

Ehe wir zur Besprechung der von uns angestellten Versuche zwecks einer Extrahierung der wirksamen Bestandteile aus den antiskorbutischen Nahrungsmitteln übergehen, möchten wir folgende Ergebnisse unserer Arbeit von 1912 hervorheben:

1. Bei Fütterungsversuchen mit Hafer und 2·5 bzw. 1·0 ^{grm} frischen Kohls pro Tier und Tag verblieben die Tiere bis zu 56 Tagen am Leben und starben, ohne oder fast ohne makro- und mikroskopische Zeichen von Skorbut zu zeigen; mit andern Worten: minimale Mengen eines guten Antiskorbutikums vermochten der Krankheit selbst bei Tieren vorzubeugen, die für Skorbut so empfänglich sind, wie Meerschweinchen.

2. Während frisch gepreßter Kohlsaft — in Dosen von 30 ^{ccm} pro Tag — die Krankheit zu verhindern vermag, verliert der Kohlsaft einen großen Teil seiner antiskorbutischen Wirkung schon nach zehnminutlicher Erhitzung bis zu 60 bis 70°.

3. Milch, in gleicher Weise behandelt, verliert ebenfalls in wesentlicher Beziehung ihre antiskorbutischen Eigenschaften.



Tabelle I.

Versuche mit getrockneten Weißkohlblättern.

Jedes Tier erhielt täglich eine 30 grm des frischen Nahrungsmittels entsprechende Menge des getrockneten Kohles. Außerdem erhielten die Tiere Wasser und so viel Hafer, wie sie fressen wollten.

+ bedeutet ein positives, — ein negatives Resultat der Untersuchungen.

Fütterung	Lebensdauer jedes Tieres in Tagen	Gewicht jedes Tieres am Anfang und Ende des Versuches in grm	Lockerung der Backenzähne	Blutungen um (Anzahl)		Skorbutische Veränderungen des Knochenmarkes in Anzahl mikroskopisch untersuchter Knochen		
				Rippenepiphysen	Kniegelenke	Rippen	Obere Enden der Tibiae	Untere Enden der Femora
a) Getrockneter Weißkohl, in einem Exsikkator über konzentrierter H_2SO_4 vom 17. II. 1911 bis 5. VI. 1912 bei 37° aufbewahrt (nach vorhergehendem Trocknen an der Luft im Brutkasten während 8 Tagen). In Wasser aufgeweicht und **ohne vorhergehendes Kochen** verfüttert.	84 (getötet)	355—337	—	—	—	19 —	2 —	2 —
	62	332—337	— (?)	—	—	17 —	2 —	2 —
b) An der Luft (im Brutkasten) während 8 Tagen getrockneter Weißkohl; **sofort** nach dem Trocknen verfüttert. Vor der Fütterung während ½ Stunde mit ½ prozent. Salzwasser gekocht.	96	387—430	—	—	—	17 —	2 —	2 —
	96 (getötet)	410—401	—	—	(Andeut.)	20 — 3 +	2 —	1 — 1 +
	96	384—390	—	—	—	13 — 4 +	2 —	2 —
	96	396—368	—	—	—	23 —	2 —	2 —



c) Derselbe **Weißkohl**, mit $^1/_2$ prozent. Essigsäure während $^1/_2$ Stunde gekocht.	90	411—200	+	3 +	—	13 + 7 —	1 — 1 +	2 —
	123 (getötet)	425—496	(Andeutung)	—	—	17 —	2 —	2 —
	123 (getötet)	394—363	—	—	—	17 —	2 —	2 —
	123 (getötet)	451—285	(Andeutung [2])	—	—	16 — 1 +	2 —	2 —
	92	431—294	+	14 +	2 +	6 — 13 +	2 +	1 — 1 +
	122 (getötet)	405—426	—	—	—	17 —	2 —	2 —
	29	415—325	—	—	—	10 — 1 +	2 —	2 —
	122 (getötet)	502—370	—	—	+ (Andeut.)	18 — 1 +	1 +	2 —
d) Getrockneter Weißkohl, im Exsikkator über konzentrierter H_2SO_4 vom 17. II. 1911 bis 21. II. 1912 aufbewahrt (nach vorhergehendem Trocknen an der Luft im Brutkasten während 8 Tagen). Vor der Fütterung mit $^1/_2$ prozent. Salzwasser während $^1/_2$ Stunde gekocht.	36	440—269	+	—	—	17 — 1 +	2 —	2 —
	31	332—191	—	—	—	21 —	2 —	2 —
	34	322—219	—	—	2 +	14 +	2 +	2 —
	36 (getötet)	274—182	—	—	—	18 —	1 — 1 +	2 —
e) Weißkohl, im Juni 1911 im Brutkasten während 14 Tagen getrocknet. Darauf wurde er in Erlenmeyersche Kolben geschüttet, durch welche ein mittels $CaCl_2$ und H_2SO_4 getrockneter Luftstrom während 21 Tagen geleitet wurde (am Ende des Prozesses zeigte ein eingeschaltetes Hygrometer immerhin noch 3 Prozent Feuchtigkeit). Darauf wurden die Kolben luftdicht geschlossen und 1 Jahr im Brutschrank aufbewahrt. Vor der Fütterung in $^1/_2$ proz. Salzwasser während $^1/_2$ Stunde gekocht.	38	361—218	—	5 +	2 +	9 — 9 +	2 +	1 — 1 +
	40 (getötet)	359—278	+	4 +	2 +	14 — 6 +	1 — 1 +	1 — 1 +
	40 (getötet)	365—329	—	—	2 +	17 — 3 +	2 —	2 —
	40	339—224	+	4 +	2 +	14 — 6 +	2 +	1 — 1 +
f) Derselbe Weißkohl. Vor der Fütterung in $^1/_2$ prozent. Essigsäure während $^1/_2$ Stunde gekocht (unter Wasserzusatz).	31	283—228	+	7 +	2 +	6 — 15 +	2 +	2 —
	32	384—235	+	Alle +	—	1 — 14 +	2 +	2 —
	45 (getötet)	293—243	+	Alle +	2 +	2 — 14 +	2 +	2 +

Hierzu kommt — was wir 1912 nicht besprochen haben —, daß frisch ausgepreßter Kohlsaft, im Vakuum bis zur Trockenheit eingedampft, in Dosen von 1·5^{grm} pro Tag und Tier der Krankheit vorzubeugen vermag.

Der Umstand, daß äußerst kleine Mengen antiskorbutischer Nahrungsmittel so spezifische Wirkungen ausüben, zusammen mit der bei einigen (aber nicht bei allen) derselben zutage tretenden Thermolabilität, schien uns auf einer früheren Stufe unserer Untersuchungen die Möglichkeit nahe zu legen, daß die wirksamen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel enzymartiger Natur sein dürften.

Von dieser Voraussetzung aus stellten wir daher eine Reihe von Versuchen an, um die wirksamen Bestandteile teils aus dem frischen Kohl, teils aus dem frisch gepreßten bzw. aus dem vakuumgetrockneten Kohlsaft zu extrahieren.

Um die lange Reihe mißglückter Versuche bei Seite zu lassen, sei nur angeführt, daß es uns schließlich gelang, durch Auflösung des vakuumgetrockneten Kohlsaftes in Glyzerin mit darauf folgender Zusetzung von Alkohol, Dekantierung des Glyzerinalkohols und schließlichem Abdampfen des Alkohols im Vakuum einen zähen Glyzerinextrakt herzustellen, welcher in Dosen Verwendung fand, die 30^{grm} frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen.

Fütterungsversuche mit Hafer und diesem Extrakt — von dem die Tiere übrigens nur einen kleineren Teil der zugemessenen Menge fressen wollten — übten zwar keine Wirkung auf die Lebzeit der Tiere, aber von zehn in dieser Weise gefütterten Tieren zeigten bei der Sektion neun — abgesehen davon, daß die Zähne bei einigen derselben andeutungsweise gelockert waren — keine oder nur sehr geringfügige Zeichen von Skorbut (Tab. IIa).

Da wir indessen trotz vieler Mühe die Tiere nicht dazu bringen konnten, diesen Extrakt in hinreichenden Mengen zu fressen, und wir außerdem durch vergleichende Versuche mit anderen Antiskorbutica immer mehr von der enzymartigen Natur der antiskorbutischen Stoffe abgekommen waren, versuchten wir das Ziel auf anderen Wegen zu erreichen.

Ehe wir hierauf näher eingehen, möchten wir hervorheben, daß, wie wir 1912 besprochen haben, die Wirkung der antiskorbutischen Nahrungsmittel auf dem Vorkommen mehrerer eigentümlicher chemischer Verbindungen beruhen muß, die, von etwas verschiedener Zusammensetzung, in ihren physiologischen Wirkungen doch einander nahe verwandt sein müssen.

Diese unsere Annahme stützt sich auf den Umstand, daß, während frisch ausgepreßter Zitronensaft und Limejuice, die zwar eine verhältnismäßig schwache, aber doch deutlich zutage tretende antiskorbutische

Tabelle II. Versuche mit verschiedenen Extrakten von Weißkohlblättern.
Jedes Tier erhielt täglich eine 30 grm des frischen Weißkohles entsprechende Menge des Extraktes.
Außerdem erhielten die Tiere Wasser und so viel Hafer, wie sie fressen wollten.
(+ bedeutet ein positives, — ein negatives Ergebnis der Untersuchungen.)

Fütterung	Lebensdauer jedes Tieres in Tagen	Gewicht jedes Tieres am Anfang u. Ende des Vers. in grm	Lockerung der Backenzähne	Blutungen um (Anzahl)		Skorbutische Veränderungen des Knochenmarkes in Anzahl mikroskopisch untersuchter Knochen		
				Rippenepiphysen	Kniegelenke	Rippen	Obere Enden der Tibiae	Untere Enden der Femora
a) 4400 grm frisch gepreßter Saft von Weißkohlblättern, im Vakuum getrocknet, wurde in 800 ccm Glyzerin aufgelöst, nachher mit 3000 grm abs. Alkohol versetzt. Dekantierung und nochmaliges Zusetzen von Alkohol mit nachfolgender Dekantierung. Der Alkohol wurde vor der Fütterung abgedampft.	23	312—130	—	—	—	10 —	1 —	1 —
	28	379—159	+ (Andeutung)	—	—	14 —	1 —	1 —
	32	265—145	+	8 +	2 +	14 +	2 +	2 +
	22	240—135	+ (Andeutung)	—	—	9 —	2 —	2 —
	29	330—196	+ (Andeutung)	—	+ (Andeut.)	21 — 2 +	2 —	2 —
	28	350—195	+	—	—	22 — 1 +	2 —	2 —
	20	418—202	—	—	—	16 —	2 —	2 —
	29	364—155	—	—	—	18 —	2 —	2 —
	11	391—205	—	—	—	nicht untersucht		
	18	373—187	—	—	—	20 —	2 —	2 —
b) 2000 grm Weißkohl im Brutkasten getrocknet (nach dem Trocknen war das Gewicht des Kohles 180 grm) wurde mit 1·5 Liter 80 prozentigem Alkohol, 15 grm Zitronensäure enthaltend, versetzt. Nach 12 Stunden wurde das Gemisch während 15 Minuten im Wasserbad bis 80° C erhitzt. Der Alkohol wurde abfiltriert und bei Zimmertemperatur abgedampft. Der Rückstand war ein zähes Extrakt.	44	314—183	—	—	—	14 —	2 —	2 —
	44	294—176	+ (Andeutung [1])	—	—	15 — 1 +	1 — 1 +	2 —
	41	288—202	+ (Andeutung [2])	—	—	16 — 1 +	2 —	2 —
	41	283—200	—	—	—	21 —	2 —	2 —
c) Wie im vorangehenden Versuche, das Alkoholgemisch wurde aber während 6 Stunden bis 60° C (mit Rückstoßkühler) erhitzt.	36	350—191	+ (Andeutung)	—	—	16 —	2 —	2 —
	37	336—190	+ (Andeutung)	—	—	14 —	2 —	2 —
	40	316—187	—	—	—	19 —	2 —	2 —
	18	308—181	—	—	—	18 —	2 —	2 —
	40	357—194	+ (Andeutung)	—	—	16 —	2 —	2 —
	18	348—184	+ (Andeutung)	—	—	15 —	2 —	2 —

Wirkung besitzen, diese Wirkung nach einem längeren Aufbewahren, ja selbst noch nach einstündigem Kochen nicht einbüßen. So verlieren Löwenzahn- und Kohlsaft diese Wirkung, der erste schon nach einem kurzen Aufkochen, der andere nach zehnminutlichem Erhitzen bis 100°; dasselbe ist auch der Fall, wenn Kohl- und Löwenzahnsaft längere Zeit hindurch bei Zimmertemperatur, ja selbst in gefrorenem Zustand aufbewahrt werden.

Es sollte daher richtig erscheinen anzunehmen, daß die wirksamen Bestandteile in den verschiedenen Antiskorbutica nicht völlig identisch sein können.

In rein chemischer Beziehung besteht ein sehr wesentlicher Unterschied zwischen diesen Säften, indem Zitronensaft — bzw. Limejuice — stark sauer, die beiden anderen aber alkalisch reagieren.

Dieser Unterschied schien uns um so beachtenswerter zu sein, als Dr. Fürst bei seinen Versuchen mit Himbeersaft, der ebenfalls stark sauer reagiert, gefunden hatte, daß auch diesem seine antiskorbutische Wirkung sowohl nach Erhitzung — sogar bis zu 110° — wie auch nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur erhalten bleibt. Ferner kam Dr. Kjennerud durch seine Versuche mit dem stark sauren Saft des Sauerampfers zu dem Ergebnis, daß auch dieser noch nach zehnminutlichem Kochen im Besitz seiner antiskorbutischen Eigenschaften ist.

Auf Grund dieser ausgesprochenen Thermostabilität der sauer reagierenden Pflanzensäfte stellten wir eine Reihe von Versuchen an mit dem Ziel vor Augen, Kohl- und Löwenzahnsaft vermittels Vorbehandlung mit Säure in thermostabile Verbindungen zu überführen.

Frisch gepreßtem Kohl- und Löwenzahnsaft wurde HCl im Verhältnis 2 Promille, bzw. Zitronensäure im Verhältnis 5 Promille mit darauf folgendem Kochen zugesetzt.

Die Ergebnisse einer Reihe von Fütterungsversuchen mit Hafer zusammen mit diesen säurebehandelten Säften erwiesen, daß ein Zusatz von 5 Promille Zitronensäure wohl den Kohlsaft, aber nicht den Löwenzahnsaft, ein Zusatz von 2 Promille HCl dagegen auch diesen letzteren thermostabil machte.

Auf die Haltbarkeit des Saftes beim Aufbewahren hatte dagegen eine vorhergehende Säurebehandlung keine Wirkung, wie auch der Saft des Sauerampfers ein längeres Aufbewahren bei Zimmertemperatur nicht verträgt.

Es waren diese 1912 mitgeteilten Untersuchungen, die uns auf den Gedanken brachten, daß sich die wirksamen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel möglicherweise vermittelst Säuren extrahieren ließen.

Als einleitender Versuch wurde frisch getrockneter Kohl, der, wie wir 1912 zeigten, eine sehr starke antiskorbutische Wirkung ausübt,



15 Minuten lang mit $^1/_2$prozentiger wässeriger Lösung von Zitronensäure gekocht; der wässerige Auszug wurde durch Filtrierpapier filtriert. Hiermit, und zwar in Mengen, die 30 ^{grm} frischem Kohl pro Tier und Tag entsprachen, wurden acht Tiere gefüttert.[1]

Die Tiere wurden am 73. Tage getötet, ohne daß ein einziges derselben makro- oder mikroskopische Zeichen von Skorbut verriet; mit anderen Worten: ein wässeriges zitronensaures Extrakt von frischgetrocknetem Kohl hat eine starke antiskorbutische Wirkung. Der Sicherheit halber sei bemerkt, daß Kontrollversuche mit $^1/_2$prozentigem Zitronensäurewasser keinen Einfluß auf die Krankheit übten.

Parallel mit diesen Versuchen wurden zwei Portionen frischgetrockneten Kohls bei Zimmertemperatur mit abs. Alkohol, bzw. mit $^1/_2$ Prozent Zitronensäure enthaltenden abs. Alkohol extrahiert; nachdem diese einige Tage gestanden hatten, wurde der Alkohol abfiltriert, und das Alkohol- bzw. das saure Alkoholfiltrat mittels eines Flügelventilators bei Zimmertemperatur zu trocknen Extrakten eingedampft.

Eine Anzahl Tiere wurde mit Hafer, Wasser und dem reinen Alkoholextrakt, eine andere mit Hafer, Wasser und dem sauren Extrakt in Dosen gefüttert, die 30 ^{grm} frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen; tatsächlich erhielten die Tiere aber nicht die volle Dosis, da wir ihnen das Extrakt in Gestalt von Pillen beibringen mußten, und dies Manöver nicht ohne einige Verluste bewerkstelligt werden konnte.

Es stellte sich heraus, daß das neutrale Extrakt (ebenso wie einige früher dargestellte Alkoholextrakte) keine Wirkung ausübte, während das saure Extrakt die Lebzeit der Tiere etwas verlängerte und auch den skorbutischen Veränderungen in gewisser Weise vorbeugte.

Ein Versuch mittels Petroläther — ohne Säurezusatz — zu extrahieren, führte zu demselben negativen Resultat wie der Versuch mit dem neutralen Alkoholextrakt, während dagegen der Kohl nach der Extraktion immer noch wirksam blieb.

Diese Ergebnisse unserer Arbeit von 1912 schienen also dafür zu sprechen, daß die Verwendung von sauer reagierenden Extraktionsmitteln ein Extrahieren der wirksamen Bestandteile ermöglichen würde.

Wir schritten daher später zu einem Versuchsverfahren, wonach frischgetrockneter Kohl, dem 1 Prozent zitronensäurehaltiger 80 prozentiger Alkohol zugesetzt war, auf einem Wasserbad mit Rückflußkühler 15 Min. lang nach Aufkochen des Alkohols erhitzt wurde; der Alkohol wurde abfiltriert und mittels eines Flügelventilators zu einem zähen Extrakt eingedampft.

[1] A. a. O. S. 106.



Mit Hafer und diesem Extrakt, und zwar in Dosen, die 30 grm frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen, fütterten wir vier Tiere mit dem Ergebnis, daß zwei derselben nach einer Lebzeit von 6 Wochen mikroskopische Veränderungen in einer Rippe, eines derselben auch in einer Tibia zeigten; zudem waren bei beiden die Backenzähne andeutungsweise gelockert, während die übrigen zwei Tiere keinerlei Anzeichen der Krankheit trugen (Tab. IIb). Auch die letzteren lebten 6 Wochen.

Einen zweiten Versuch änderten wir dahin, daß Kohl und derselbe Alkohol auf einem Wasserbad 6 Stunden lang auf 60° erhitzt wurden. Mit dem hieraus gewonnenen Extrakt und mit Hafer fütterten wir sechs Tiere, die bis zu 40 Tagen lebten und die, abgesehen von den bei 4 Tieren andeutungsweise gelockerten Zähnen, weder makro- noch mikroskopische skorbutische Erscheinungen zeigten (Tab. IIc).

Trotzdem, daß also die Tiere in diesen Versuchsreihen nur eine verhältnismäßig kurze Zeit am Leben blieben, zeigt ein Vergleich mit unserer Arbeit von 1912 (S. 22), daß die Extrakte im Besitze nicht zu verkennender antiskorbutischer Eigenschaften waren. D. h. heißer 80 prozentiger Alkohol, mit 1 Prozent Zitronensäure versetzt, vermag antiskorbutische chemische Bestandteile des frisch getrockneten Kohls in Lösung zu bringen. Wegen der kurzen Lebensdauer der Tiere und der, wenn auch geringen Lockerung der Zähne ist jedoch das besprochene Verfahren nicht dazu geeignet, alle Bestandteile dieser Art zu extrahieren.

Über die eigentliche Natur dieser Bestandteile können wir zurzeit nichts mitteilen.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld.)

Über quantitative Verhältnisse bei der Bindung von Toxin und Antitoxin.

Von

Dr. **Otto Ornstein,** und Dr. **Heinrich Müller,**[1]
früh. Assistenten früh. freiwill. Hilfsarbeiter
am Institut.

Bei den Untersuchungen v. Behrings und seiner Mitarbeiter ergab sich, daß die Bindung von Tetanustoxin und -Antitoxin verhältnismäßig langsam verläuft, und daß die Schnelligkeit der Neutralisierung neben anderen Faktoren in gewissem Grade von der Konzentration der beiden aufeinander wirkenden Stoffe abhängig ist. In Versuchen, die v. Behrings Mitarbeiter Knorr[2] mitteilte, erforderten weniger konzentrierte Lösungen von Toxin bei der Mischung in vitro relativ mehr Antitoxin, als konzentrierte Lösungen; blieben aber solche Gemische schwacher Konzentrationen, die sich bei sofortiger Einspritzung noch als toxisch erwiesen, mehrere Stunden oder Tage lang stehen, bevor sie injiziert wurden, so glichen sich die Differenzen aus.[3]

[1] Die Versuche mit Botulinusgift sind von Dr. Ornstein, die mit Diphtherie- und Kobragift zum größten Teil von Dr. Müller, der die Arbeit nach dem Weggange Dr. Ornsteins fortsetzte, ausgeführt worden.

[2] *Fortschr. d. Med.* 1887. S. 665. — *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. S. 321.

[3] Vgl. hierzu die späteren Ausführungen v. Behrings (*Beiträge zur experim. Therapie.* Hft. 7. S. 60.) bezüglich der spontanen Abschwächung verdünnter Toxinlösungen bei längerem Stehen; danach sind derartige Versuche wohl nur dann als beweisend anzusehen, wenn auf diese Fehlerquelle Rücksicht genommen ist.



Knorr schließt, „daß die Vereinigung von Toxin und Antitoxin eine langsame ist und zwar um so langsamer, je weniger konzentriert die beiden Lösungen aufeinander wirken“.

Für das Diphtherietoxin und -Antitoxin gilt nach den eingehenden Untersuchungen Morgenroths[1] das gleiche. Auch hier findet im Gegensatz zu der Annahme früherer Untersucher (die sich auf Beobachtungen bei subkutaner Injektion von Gift- und Serumgemischen stützte) die Bindung langsam statt und ist von der Konzentration abhängig; die Reaktion „dürfte selbst in ziemlich konzentrierten Lösungen von Toxin und Antitoxin bei mittlerer Temperatur erst nach einem Zeitraum von 24 Stunden abgeschlossen sein“.

Vom praktischen Standpunkt aus ist natürlich die Frage, wie sich die Verhältnisse der Bindung von Toxin und Antitoxin in vivo gestalten, von noch weit größerem Interesse. Nun gilt nach Morgenroth das angegebene Gesetz auch dann, wenn Toxin und Antitoxin nicht in vitro, sondern in der Blutbahn zusammentreffen; die von ihm festgestellte Tatsache, daß dasselbe frische Toxin-Antitoxingemisch bei subkutaner Einspritzung neutral, bei intravenöser dagegen toxisch sein kann, erklärt sich hiernach in der Weise, daß in letzterem Falle das Gemisch sofort in der Gefäßbahn stark verdünnt, und dadurch die Neutralisation erschwert wird.

Auch v. Behring[2] hat kürzlich darauf hingewiesen, daß möglicherweise auch in vivo bei getrennter Einspritzung von Tetanusgift und -Antitoxin mit abnehmender Giftdosis der Antitoxingehalt relativ erhöht ist, und daß diese Annahme zur Erklärung des paradoxen „Verdünnungphänomens“, auf das wir unten noch zurückkommen, herangezogen werden kann. Bezüglich des Diphtheriegiftes hat jedoch v. Behring[3] wenigstens früher den entgegengesetzten Standpunkt vertreten; er hob hervor, daß auffallenderweise, gerade umgekehrt wie beim Tetanusgift, beim Diphtheriegift der relative Antitoxinbedarf mit steigender Dosierung immer größer werde; dies gelte auch dann, wenn Antitoxin und Gift den Tieren getrennt injiziert würden.

Zur Aufklärung der quantitativen Verhältnisse der Neutralisierung von Toxin und Antitoxin in vivo erscheinen unter diesen Umständen weitere Versuche erwünscht. Über die Frage, in welchem Sinne der lebende Körper die Bindung des Antikörpers beeinflußt, sind verschiedene

---

[1] *Diese Zeitschrift.* 1904. Bd. XLVIII. S. 177. — Vgl. auch Morgenroth und Levy, *Ebenda.* 1911. Bd. LXX. S. 70.

[2] v. Behring, *Einführung in die Lehre von der Bekämpfung der Infektionskrankheiten.* 1912. S. 246.

[3] v. Behring, *Deutsche Klinik.* 1901. Bd. I.



Ansichten laut geworden. Morgenroth nimmt an, daß bei der subkutanen Einspritzung des Gemisches: Diphtherietoxin und Antitoxin eine Art „katalytischer Beschleunigung" der Bindungsvorgänge durch die Gewebe zustande kommt, und auch v. Behring[1] spricht von einem „Konduktor", der zum Eintritt der antitoxischen Giftneutralisation notwendig sei, und weist auf die Möglichkeit hin, „daß in vitro eine chemische Bindung zwischen Antitoxin und Gift entweder nur unvollständig oder gar nicht stattfindet, und daß unter gewissen Umständen der antitoxische Entgiftungsprozeß sich erst in vivo abspielt". Andererseits haben schon Ransom[2] und Kitashima[3] Beobachtungen mitgeteilt, wonach die Neutralisation wenigstens bei kleinen Dosen von Tetanustoxin und Antitoxin bei Verdünnung mit normalem Blut etwas gehemmt wird. Ferner hat kürzlich Barikine[4] die Annahme vertreten, daß die Bedingungen für die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin in einem kolloiden Medium, speziell in aktivem Serum, erheblich schlechter seien als in Kochsalzlösung.

Dies würde mit den Beobachtungen übereinstimmen, die Ungermann und Kandiba[5] bezüglich der Bindung von antibakteriellen und antizellulären Antikörpern in vivo und in vitro angestellt haben.

Ungermann und Kandiba kamen zu der Anschauung, daß die antiinfektiösen Sera gegen Streptokokken, Pneumokokken und Rotlauferreger, deren Wirkung sie auf spezifische Tropine zurückführen, im Tierkörper im wesentlichen entsprechend ihrer Konzentration wirken, so daß also ein 100 mal schwereres Tier annähernd 100 mal mehr Serum zum Schutze gegen die gleiche Infektion braucht. Demgegenüber bestehen innerhalb recht weiter Grenzen kaum irgendwelche Beziehungen zwischen der absoluten Menge von Antikörper und Antigen (Infektionsdosis), indem, sobald ein gewisser „Schwellenwert" der Konzentration der Antikörper im Tierkörper erreicht ist, oft zum Schutz gegen 100- bis 1000fach größere Infektionsdosen nicht nennenswert mehr Serum nötig ist, als gegen kleinste Dosen; jedenfalls wachsen, solange man nicht mehr mit sehr großen Infektionsdosen arbeitet, bei den genannten Septikämieerregern die schützenden Serummengen außerordentlich viel langsamer, als die Infektionsmengen. Bei einem im wesentlichen lokal verlaufenden Krankheitsprozeß, nämlich der intraperitonealen Cholerainfektion des Meerschweinchens fanden Ungermann und Kandiba dagegen im Pfeifferschen Versuch ein Verhalten,

[1] v. Behring, *Beiträge zur experim. Therapie.* 1904. Hft. 7. S. 11.

[2] und [3] zitiert nach v. Eisler u. Pribram, Kraus-Levaditis *Handbuch.* Bd. II. S. 157.

[4] Barikine, *Zeitschr. f. Immunitätsforschung.* Bd. XV. S. 329.

[5] Ungermann u. Kandiba. *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1912. Bd. XL. S. 24.

das dem Gesetz der Multipla ziemlich gut entsprach, indem bei einer besonders hoch virulenten Cholera(El Tor)kultur zum Schutz gegen $^1/_{10}$ und $^1/_{100}$ Öse etwa $^1/_{10}$ bzw. $^1/_{100}$ der gegen 1 Öse schützenden Serummenge erforderlich war. Diese quantitativen Verhältnisse, die natürlich auch von praktischer Bedeutung für alle serotherapeutischen Versuche sind, sind zum Teil durch die verschiedene Wachstumsenergie der Erreger und die Art ihrer Verbreitung im Tierkörper zu erklären; insoweit bieten sie also keinen Vergleichspunkt für die Serumwirkung einem nicht vermehrungsfähigen Toxin gegenüber. Zum Teil kommt dabei aber auch die Verteilung des Serums im Tierkörper und der Widerstand, den die Körpersäfte und Zellen offenbar in vielen Fällen der Vereinigung von Antikörper und Antigen entgegensetzen, in Betracht. Bei ihren Versuchen in vitro fanden nämlich Ungermann und Kandiba, daß alle von ihnen untersuchten Antikörper (Lysine, Tropine und Agglutinine) sich mit dem zugehörigen Antigen (Blutkörperchen bzw. Bakterien) innerhalb gewisser Grenzen durchaus nach dem einfachen Gesetz der Multipla, also unabhängig vom Gesamtvolumen der Mischungen, vereinigten, sobald sie in physiologischer Kochsalzlösung aufeinander einwirkten; sobald jedoch außerdem indifferentes Serum oder Körperzellen vorhanden waren, ergaben sich unregelmäßige Verhältnisse, so daß bisweilen z. B. bei Phagozytoseversuchen in vitro mit Pneumokokken und Blutkörperchen die spezifischen Sera ähnlich wie in den oben erwähnten Tierversuchen annähernd ihrer Konzentration, anstatt ihrer absoluten Menge nach wirksam erschienen.

In einem solchen Verhalten darf man wohl den Ausdruck einer relativ geringen Affinität des Antikörpers zum Antigen sehen. Ist dagegen diese Affinität eine sehr starke, so wird der Antikörper ohne Rücksicht auf das Volumen des Mediums nahezu vollständig von dem Antigen gebunden, er wirkt alsdann nicht nach seiner Konzentration, sondern annähernd (innerhalb gewisser Grenzen) nur nach seiner absoluten Menge. Diesen Gegensatz hat schon Scheller[1] bei Hämolyseversuchen für das Komplement, das eine geringe, und den spezifischen Ambozeptor, der eine sehr hohe Affinität zu den Erythrozyten besitzt, klar gelegt; im ersteren Falle tritt die Wirkung annähernd entsprechend der Konzentration, im zweiten annähernd entsprechend der absoluten Menge des Stoffes ein.

Für die in vieler Hinsicht so genau studierte Toxin-Antitoxinbindung sind diese quantitativen Verhältnisse im Tierversuch noch nicht genügend klar gelegt worden. Der von Ehrlich eingeführte Mischungsversuch gibt natürlich über die Verhältnisse der Bindung im Tierkörper keine klare Auskunft, da hierbei die Bindung schon großenteils in vitro abläuft. Als

[1] Scheller, *Centralblatt für Bakteriologie.* Orig. Bd. LXI. S. 120.



v. Behring zuerst eine Wertbestimmungsmethode für das Tetanus- und Diphtherieantitoxin mit getrennter Injektion von Toxin und Antitoxin angab [1], drückte er die Schutzkraft des Serums durch das Verhältnis der schützenden Serummenge zum Körpergewicht des betreffenden Tieres aus, und dasselbe geschieht bei der in Frankreich üblichen Methode der Serumtitrierung. Eine solche Bezeichnung würde eigentlich nur dann korrekt sein, wenn diese Sera im Tierkörper tatsächlich nach ihrer Konzentration wirken, und wenn somit für ein doppelt so schweres Tier zum Schutz gegen die gleiche Giftdosis doppelt so viel Serum nötig sein würde. Das ist jedoch für die genannten Sera wohl niemals behauptet worden.

Wir haben nun bei 3 verschiedenen Giften, nämlich dem Botulinus-, Diphtherie- und Kobratoxin, Versuche über die quantitativen Verhältnisse der Neutralisierung von Toxin und Antitoxin im Tierkörper angestellt. Dabei haben wir, um möglichst einfache Bedingungen zu schaffen (abgesehen von einigen Versuchen mit Kobragift), sowohl Gift wie Serum stets intravenös gegeben und zwar zuerst das Serum, dann $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde später das Gift. Auf diese Weise können beide Stoffe, nur durch das Blut verdünnt, sofort miteinander in Reaktion treten; durch die eingehenden Versuche v. Behrings [2] und seiner Mitarbeiter ist ja sicher gestellt worden, daß intravenös injiziertes Antitoxin sich außerordentlich schnell und gleichmäßig in der Blutbahn verteilt und hier relativ lange annähernd quantitativ erhalten bleibt, so daß wenigstens während der ersten Stunden kein erheblicher Verlust eintritt. Zum Vergleich haben wir in einigen Versuchen Gift und Antiserum in vitro gemischt und kurz danach intravenös injiziert.

Weiterhin haben wir, um möglichst deutliche Ausschläge zu erhalten, stets mit großen Multipla und zwar so weit möglich mit einer einfachen, zehnfachen und hundertfachen Giftdosis gearbeitet, wobei unsere einfache Giftdosis bereits ein mehrfaches Multiplum der kleinsten tödlichen Dosis darstellt. Eine einfache Überlegung ergibt ja, wie u. a. von P. Th. Müller [3] ausgeführt worden ist, daß das Antitoxin natürlich nicht die ganze Toxinmenge zu neutralisieren braucht, sondern nur so viel, daß nicht eine volle tödliche (bzw. eine noch gerade krankmachende) Dosis mehr frei bleibt. Z. B. kann ein Gemisch geringer Mengen von Toxin und Antitoxin eine halbe tödliche Dosis enthalten und daher im Tierversuch neutral erscheinen; multipliziert man Toxin wie Antitoxindosen mit zehn, so würde, vorausgesetzt, daß die Reaktion nach dem Gesetz der Multipla erfolgt ist, dieses

[1] v. Behring u. Knorr, *Diese Zeitschrift.* Bd. XIII. — v. Behring, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893.

[2] *Beiträge zur experim. Therapie.* 1912. Hft. 12.

[3] *Vorlesungen über Infektion und Immunität.* III. Aufl. S. 200 ff.



letztere Gemisch fünf tödliche Dosen enthalten; scheinbar wäre hier also die Neutralisierung schlechter vor sich gegangen. Diese Fehlerquelle wird sich, wie eine einfache Berechnung zeigt, um so mehr bemerkbar machen, jemehr die benutzte kleinste Toxindosis sich der Dosis minima letalis nähert; sie wirkt in dem Sinne, daß kleine Toxinmengen, insbesondere solche, die in der Nähe der einfach tödlichen Dosis liegen, relativ weniger Antitoxin bedürfen, um scheinbar völlig neutralisiert zu sein, als größere.

Bei unseren Versuchen haben wir kleinere Differenzen nicht berücksichtigt, sondern nur nach größeren Ausschlägen gesucht; wir haben daher die Serumdosen nicht etwa so fein abgestuft, wie man es sonst bei Titrierung der Antitoxine zu tun gewohnt ist, und wie es z. B. auch in den erwähnten Versuchen Morgenroths geschehen ist. Wir glauben jedoch bei unserer Versuchsanordnung bei den drei untersuchten Toxinen ein durchaus charakteristisches Verhalten gefunden zu haben.

Diese Untersuchungen sind auf Anregung von Hrn. Prof. Neufeld ausgeführt worden, der die Hauptergebnisse bereits bei der letzten Tagung der „Freien Vereinigung für Mikrobiologie“[1] mitgeteilt hat. Wir folgen bezüglich der Deutung der Resultate den dort gemachten Ausführungen.

Versuche mit Botulinustoxin.

Das Gift stammte von dem von Ornstein[2] isolierten und beschriebenen Botulinusstamm. Zum ersten Versuch wurden Kaninchen von etwa 1500 bis 1600 grm benutzt. Zuerst wurde das Serum, $^1/_4$ Stunde später das Gift intravenös injiziert (vgl. Tabelle I).

Der Versuch zeigt eine deutliche und erhebliche Abweichung vom Gesetz der Multipla in dem Sinne, daß größere Toxinmengen relativ weniger Antitoxin zur Neutralisierung brauchen als kleinere; bei Steigerung der Toxinmengen von 1:10:100 steigen die eben schützenden Serummengen nur etwa 1:2·5:10. Die Ursache für diese Erscheinung sehen wir darin, daß innerhalb der Blutbahn Gift und Antikörper in starken Konzentrationen besser und schneller miteinander in Reaktion treten als in schwachen.

Es gilt also für das Botulinusantitoxin dasselbe Gesetz, wie es in den eben erwähnten Versuchen von Ungermann und Kandiba für die Antisera gegen septikämische Bakterien, hier allerdings noch in viel stärkerem Maße, zutage tritt, daß nämlich kleine Antigenmengen relativ schwer zu neutralisieren sind.

[1] *Centralblatt f. Bakteriologie.* Ref. Bd. LVII. Nr. 14/22. Beiheft S. 133.
[2] *Zeitschrift f. Chemotherapie.* Orig. Bd. I. S. 458.



Tabelle I.
Versuche mit Botulinusgift und -Serum an Kaninchen.

Toxinmenge	Serummege	Erfolg
0·002	0·002	† nach etwa 30 Stunden
0·002	0·005	† „ „ 40 „
0·002	0·01	† „ 5 Tagen
0·002	0·02	lebt (nachträglich nach 10 Tagen †)
0·002	0·05	lebt
0·02	0·01	† nach 1 Tage
0·02	0·02	† „ 2 Tagen
0·02	0·05	krank (Paresen), erholt
0·02	0·1	lebt
0·2	0·1	†
0·2	0·2	krank (Paresen), erholt
0·2	0·5	lebt

Kontrollen:

0·002 Toxin † innerhalb 20 Stunden.
0·02 „ † über Nacht (nach 6 Stunden noch lebend).
0·2 „ † „ „ („ 6 „ „ „).

Ein Ausdruck desselben Gesetzes ist offenbar das vielbesprochene „Verdünnungsphänomen", das bereits oben erwähnt wurde. Das Phänomen, das von v. Behring[1] für Tetanusgift, von Madsen[2] für das Botulinustoxin, von Otto und Sachs[3] für Arachnolysin untersucht wurde, besteht darin, daß sich in vitro Gemische von Toxin und Antitoxin herstellen lassen, die insofern ein paradoxes Verhalten zeigen, als sie bei zunehmender Verdünnung giftiger werden. Auch wir haben in mehreren Versuchen mit Botulinusgift dasselbe Verhalten beobachtet, wenn wir Mäusen oder Kaninchen fallende Bruchteile derselben Toxin-Antiserummischung intravenös injizierten. Die Versuche geben wir nicht ausführlich wieder, da die Ergebnisse durchaus mit denjenigen von Madsen übereinstimmen.

Zur Erklärung dieses Phänomens ist es wohl nicht notwendig, eine „Dissoziation" der Bindung Toxin-Antitoxin anzunehmen, sondern es genügt die Vorstellung, daß die Bindung in vitro noch nicht vollständig abgelaufen ist, und daß nach der Injektion eine Verdünnung der spezifischen Stoffe in den Körpersäften eintritt. Alsdann bestehen dieselben Verhältnisse wie bei getrennter intravenöser Injektion in dem vorgehenden Versuch.

[1] *Beiträge zur experim. Therapie.* Hft. 7. S. 5. — Vgl. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 12.

[2] *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1906. Ref. Bd. XXXVII. S. 373.

[3] *Zeitschrift f. experim. Pathologie und Therapie.* 1906. Bd. III.



Da jedoch beim Mischungsversuch die Reaktion schon in vitro in kleinem Volumen und in einem indifferenten Medium, also unter günstigen Bedingungen einsetzt, so werden die Differenzen des relativen Antitoxinbedarfs bei solchen „Verdünnungsversuchen" lange nicht so groß sein, wie bei getrennter Injektion. Insbesondere wird begreiflicherweise bei subkutaner Einspritzung der Einfluß der Verdünnung leicht zurücktreten.

Im folgenden Versuch haben wir wechselnde Multipla von Botulinusgift und Antitoxin stets im gleichen Verhältnis zueinander, nämlich 4:1, in vitro gemischt und zwar jedesmal im gleichen Volumen, 1^{ccm}, das durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurde; alsdann wurde die gleiche Flüssigkeit kurz nach der Mischung je einem Kaninchen und einer Maus intravenös eingespritzt. War die Annahme richtig, daß bei solchen Versuchen die Verdünnung in der Blutflüssigkeit eine Rolle spielt, so war zunächst zu erwarten, daß auch hier wieder die Giftigkeit der Gemische mit steigender absoluter Toxinmenge abnehmen, und ferner, daß die gleiche Mischung für größere Tiere, bei denen eine stärkere Verdünnung in vivo eintritt, giftiger sein würde als für kleinere.

Tabelle II.

Dasselbe Botulinusgift wird in vitro in je 1·0 physiologischer Kochsalzlösung mit Antitoxin gemischt und kurz nach der Mischung Kaninchen von 1500 bis 1600 bzw. Mäusen von 15 bis 20^{grm} intravenös eingespritzt. Das Mengenverhältnis von Gift zu Serum ist bei allen Versuchen gleich, nämlich 4:1.

Toxin	Serum	Erfolg beim Kaninchen	Erfolg bei der Maus
0·0001	0·000025	—	krank, lebt
0·0002	0·00005	—	† nach 3 Tagen
0·002	0·0005	lebt (nachträgl. nach 10 Tagen †)	† nach 2 Tagen
0·02	0·005	† nach 2 Tagen	krank, erholt
0·2	0·05	lebt (nachträgl. nach 10 Tagen †)	lebt

Kontrollen:

Für Mäuse ist die kleinste in einem Tage tödliche intravenöse Dosis etwa 0·00005
„ Kaninchen ist die „ „ „ „ „ „ „ „ 0·0002

Tabelle II bestätigt die Erwartungen in der Tat, wenigstens soweit größere Giftmengen in Betracht kommen. Die Mischung von 0·02 Gift und 0·005 Serum ist für Kaninchen akut tödlich, das zehnfache Multiplum nicht mehr; ebenso werden Mäuse durch die Mischung von 0·0002 Toxin und 0·00005 Serum und auch noch durch das zehnfache



Multiplum davon getötet, aber nicht mehr durch das 100- und 1000fache Multiplum. Ebenso zeigt sich der erwartete Gegensatz der beiden Tierarten gegenüber ein und demselben Gemisch: 0·02 Gift + 0·005 Serum tötet zwar das Kaninchen aber nicht die Maus, obwohl die tödliche Dosis für diese etwa viermal kleiner ist!

Bei noch weiter getriebener Verdünnung nimmt schließlich die Giftigkeit der Gemische für beide Tierarten wieder ab. Wie bereits oben ausgeführt wurde, kann ein solches Verhalten selbst bei getrennter Injektion von Toxin und Serum leicht dann eintreten, wenn sich die benutzten Giftdosen bereits der tödlichen Minimaldosis nähern; weit eher ist es natürlich bei Mischungsversuchen zu erwarten. So ist in der Mischung mit 0·002 Toxin offenbar bereits in vitro so viel Gift gebunden worden, daß zwar noch eine tödliche Dosis für Mäuse, aber nicht für Kaninchen übrig geblieben ist.

Ein Vergleich zwischen den Zahlen der Kaninchenversuche in den Tabellen I und II zeigt, wie günstig für das Botulinusgift und -Antitoxin die Bindungsverhältnisse in vitro in kleinem Volumen und in indifferentem Medium gegenüber den Verhältnissen in der Blutbahn des Kaninchens sind; wie zu erwarten, macht sich das am stärksten wieder bei kleinen Dosen bemerkbar. Obwohl in Tabelle II die Grenzwerte nicht festgestellt sind, so läßt sich bei dem Vergleich doch erkennen, daß bei kurzem Kontakt in vitro bei einer Toxinmenge von 0·2 noch etwa $^1/_4$, bei 100fach kleinerer Toxinmenge sogar bereits $^1/_{40}$ der bei getrennter Infektion nötigen Serummenge zum Schutze ausreicht.

Versuche mit Diphtherietoxin.

Mit Diphtheriegift und -Antitoxin haben wir eine größere Zahl von Versuchen mit getrennter Injektion an Kaninchen gemacht. Aus der Literatur sei eine Beobachtung aus den bekannten Versuchen von Dönitz[1] hervorgehoben, wonach bei intravenöser Einspritzung am Kaninchen, wenn zuerst das Gift, unmittelbar danach das Serum gegeben wurde, innerhalb gewisser Grenzen annähernd das Gesetz der Multipla Geltung zu haben schien; es wurde nämlich die siebenfache Dosis let. durch 0·34 I.-E., die 60fache durch 2·5 I.-E. neutralisiert. Ferner sei auf die schon zitierten Versuche Morgenroths hingewiesen. Der Autor stellte u. a. fest, daß die gleichen Giftserumgemische bei intravenöser Einspritzung für Kaninchen giftiger als für Meerschweinchen waren, und daß sich dieser Unterschied



[1] *Arch. intern. de pharmaco-dynamie.* Bd. V. — Ref. Baumgartens *Jahresbericht.* 1899. S. 228.



bei 24 stündigem Stehen der Mischungen vollkommen ausglich; auch hier zeigte sich also eine, wenn auch nicht sehr erhebliche Differenz zugunsten der kleineren Tierart.

Tabelle III.
Diphtherieversuche an Kaninchen.

Das Serum wurde jedesmal in der Menge von 1 ccm in der angegebenen Verdünnung intravenös injiziert, das Gift $^1/_2$ Stunde danach gleichfalls intravenös.

0·04 Toxin		0·4 Toxin		4·0 Toxin	
1·0 Serum	Ausgang	1·0 Serum	Ausgang	1·0 Serum	Ausgang
1 : 50 000	†2	1 : 5000	†1	—	—
1 : 12 000	†3	1 : 1200	†2	—	—
1 : 12 000	†3	1 : 1200	†2		
1 : 10 000	†3	1 : 1000	†2	1 : 100	†2
1 : 10 000	†3	1 : 1000	†2		
1 : 10 000	†3	1 : 1000	†3		
1 : 7500	†3	1 : 750	†2	1 : 75	†2
1 : 7500	†3	1 : 750	†2		
1 : 7500	†3	1 : 750	†2		
1 : 7500	†3	1 : 750	†2		
1 : 7500	†6	1 : 750	†2		
1 : 7500	lebt	1 : 750	†3		
1 : 6000	†2	1 : 600	†2	1 : 60	†4
1 : 6000	†3	1 : 600	†3	1 : 60	†4
1 : 6000	†3	1 : 600	†4	1 : 60	†5
1 : 6000	†5	1 : 600	†5	1 : 60	†5
1 : 6000	†8	1 : 600	†9	1 : 60	lebt
1 : 4500	†6	1 : 450	† 8	1 : 45	lebt
1 : 4500	†8	1 : 450	†10	1 : 45	„
1 : 4500	†8	1 : 450	lebt	1 : 45	„
1 : 3000	lebt	1 : 300	lebt	—	—
1 : 3000	„	1 : 300	„		
1 : 3000	„	1 : 300	„		
1 : 3000	„	1 : 300	„		
1 : 2000	lebt	1 : 200	lebt	—	—

Kontrollen:

0·01 Toxin †6
0·02 „ †3
0·04 „ †1
0·04 „ †1 (nach 7 Stunden noch lebend, † über Nacht)
4·0 „ †1 („ 7 „ „ „ † „ „)

†1 bzw. †2 bedeutet: innerhalb der ersten 24 bzw. zweimal 24 Stunden usw. eingegangen.

Unsere Versuche wurden ausschließlich an Kaninchen von etwa 1600 bis 1800^{grm} angestellt; das Serum wurde ebenso wie $^1/_2$ Stunde später das Toxin intravenös, auf 1^{ccm} Kochsalzlösung verdünnt, injiziert. Es wurde stets dasselbe, von der Fabrik als 500fach bezeichnete Serum und das gleiche Gift benutzt; letzteres war uns von dem Sächsischen Serumwerk in Dresden freundlichst überlassen worden. Es tötete Kaninchen noch in der Menge von 0·01 intravenös gegeben. Wir stellten nun die Serummengen fest, die bei der gewählten Versuchsanordnung gegen die drei Dosen: 0·04, 0·4 und 4·0 Gift schützten. Was die Sektionsbefunde betrifft, so sahen wir in Bestätigung der Angaben von Morgenroth u. a. in einem großen Teil der Fälle Rötung der Nebennieren (und Nieren), zuweilen auch Netzblutungen und pleuritisches Exsudat, während in einer beträchtlichen Zahl von Fällen kein charakteristischer Befund vorlag (vgl. Tabelle III).

Der Ausfall der Versuche ist, abgesehen von einem Tiere der ersten Kolumne, das außer der Reihe mit 1:7500^{ccm} Serum und 0·04 Toxin am Leben blieb, recht regelmäßig. Das Ergebnis ist prinzipiell das gleiche, wie beim Botulinusgift, indem wiederum zum Schutz gegen große Giftmengen relativ weniger Antitoxin erforderlich ist. So starben z. B. alle drei Tiere, die 0·04 Toxin und 1:4500 Serum erhalten haben; von den drei mit den zehnfachen Dosen von Toxin und Antitoxin injizierten Tieren bleibt eins, von den mit der 100fachen Menge dagegen alle drei am Leben.

Wenn hiernach die Abweichungen vom Gesetz der Multipla sich in derselben Richtung bewegen wie in den vorhergehenden Versuchen mit Botulinusgift, so ist offenbar die Größe dieser Abweichungen bei den Diphtherieversuchen viel geringer. Es wachsen nämlich, wenn die Toxindosen von 1:10:100 variiert werden, die zum sicheren Schutz erforderlichen Serummengen im Verhältnis 1:10:66·6, während wir beim Botulinusgift das Verhältnis 1:2·5:10 fanden. So weit es sich um das Verhältnis der beiden ersten Zahlen handelt, ist nach den früher dargelegten Gesichtspunkten zu berücksichtigen, daß als kleinste Giftdosis bei Botulinustoxin etwa das zehnfache, bei Diphtheriegift aber nur etwa das vierfache der einfach tödlichen Dosis benutzt wurde; infolgedessen verhalten sich die wirklich zu neutralisierenden Giftmengen in dem ersten Falle etwa wie 1:11:111 (nämlich etwa 9 dos. let. zu 99 zu 999 dos. let.), in letzterem aber annähernd wie 1:13:133 (etwa 3:39:399 dos. let.). Hierdurch können nicht die erheblichen Differenzen erklärt werden, die sich nicht nur bei der zehnfach, sondern auch bei der 100fach gesteigerten Giftdosis finden, wir müssen vielmehr aus den Versuchen schließen, daß in der Blutbahn die Bedingungen für die Entgiftung des Diphtheriegiftes durch sein Antitoxin, insbesondere wenn



es sich um kleine Mengen beider Stoffe handelt, weit günstiger sind, als beim Botulinusgift und -Antitoxin. Worauf das beruht, ob wirklich die Affinität zwischen dem Diphtherieantitoxin und seinem Antigen so viel größer ist als beim Botulinusantitoxin und Toxin, so daß die Hindernisse, die der Vereinigung von Antigen und Antikörper in der Blutbahn entgegenstehen, in dem einen Falle viel leichter überwunden werden, als in dem anderen, diese Frage können wir auf Grund der obigen Versuche allein wohl nicht sicher beantworten, da wir über das weitere Schicksal der beiden Gifte, über die Schnelligkeit mit der sie die Blutbahn verlassen und den Weg, den sie einschlagen, um sich an die giftempfindlichen Zellen zu verankern, nicht genügend unterrichtet sind; jedoch sprechen die nachfolgenden Versuche mit Kobragift ebenso wie Mischungsversuche mit Diphtheriegift dafür, daß die Reaktionsgeschwindigkeit verschiedener Gifte mit ihrem Antitoxin prinzipiell verschieden sein kann.

Nun wird bekanntlich von R. Kraus u. a. Autoren die Ansicht vertreten, daß auch demselben Toxin gegenüber verschiedene Antisera verschieden schnell reagieren sollen. Zur Lösung dieser Frage würden unseres Erachtens Versuche nach der von uns benutzten Methode beitragen können. Wenn man z. B. ein und demselben Diphtheriegift gegenüber verschiedene Antitoxinproben in gleicher Weise und zwar vor allem mit kleinen Gift- und Serummengen untersucht, so würde sich voraussichtlich feststellen lassen, ob nennenswerte Unterschiede in der Avidität verschiedener Sera vorliegen. Es ist im Grunde dasselbe Prinzip, das bereits in der erwähnten Arbeit von Barikine verwendet worden ist. Die Ausschläge sind offenbar genau genug, um erhebliche Aviditätsunterschiede erkennen zu lassen; kleinere Unterschiede in dieser Hinsicht würden jedoch wenigstens in praktischer Hinsicht ohne Bedeutung sein und nicht die Einführung besonderer Methoden zur Aviditätsbestimmung, wie sie von Kraus u. a. gefordert worden ist, rechtfertigen.

Wenn sich in dieser Weise die von uns angewandte Methode vielleicht in Zukunft auch zur Entscheidung einer praktisch wichtigen Frage wird mit heranziehen lassen, so sind unsere bisherigen Ergebnisse vielleicht auch nicht ganz ohne praktisches Interesse. Aus den Versuchen mit Diphtherieantitoxin geht deutlich hervor, daß sich dasselbe auch noch in sehr weit getriebener Verdünnung im Tierkörper mit großer Sicherheit mit seinem Antigen vereinigt. So reagierte das in $^{1}/_{3000}$ ccm unseres etwa 500fachen Serums enthaltene Antitoxin, also etwa $^{1}/_{6}$ I.-E., trotz der Verdünnung durch das Kaninchenblut mit der etwa vierfach tödlichen Giftdosis etwa ebenso gut wie die zehnmal größere Antitoxinmenge mit der zehnmal größeren Giftdosis. Auf das Körpergewicht des Menschen berechnet würde dieselbe Verdünnung eintreten, wenn etwa 8 I.-E.

in den Kreislauf eines Erwachsenen eingeführt werden. Wenngleich man natürlich diese Zahlenverhältnisse nicht ohne weiteres auf die Serumtherapie der menschlichen Diphtherie übertragen kann, so sprechen die Ergebnisse doch wohl unverkennbar im Sinne derjenigen, die eine übermäßige Steigerung der Serumdosis bei rechtzeitig in Behandlung kommenden Diphtheriefällen für überflüssig halten, und im Sinne der u. a. kürzlich von Kossel bei der letzten Tagung der Mikrobiologischen Vereinigung vertretenen Ansicht, daß die guten Erfolge, die die Beobachter im Jahre 1894 von den subkutanen Injektionen geringwertigen Serums sahen und die die Grundlage für die Einführung des Serums bildeten, nicht auf Selbsttäuschung beruht haben.

Versuche mit Kobragift.

Zu diesen Versuchen benutzten wir ein uns von Herrn Prof. Morgenroth freundlichst überlassenes Trockengift. Dasselbe wurde meist in frisch bereiteter Lösung verwendet; bei einigen Versuchen wurde es zu 0·5 Proz. in einer Mischung von gleichen Teilen Glyzerin und 0·8 Proz. Kochsalzlösung gelöst und erwies sich entsprechend den Beobachtungen der früheren Autoren in dieser Lösung einige Zeit genügend konstant. Das Kobraheilserum wurde uns von Herrn Prof. Calmette-Lille in entgegenkommender Weise in größeren Mengen zur Verfügung gestellt.

Tabelle IV.

Versuche an Mäusen von 15 bis 20 grm mit Kobragift.

Zuerst wird das Serum, dann 15 bis 30 Minuten später das Gift, beides intravenös, in je 0·5 Volumen injiziert.

Toxinmenge	Serummenge	Anzahl der Tiere	Ausgang
0·000003	Kontrollen	1	lebt
0·000005	„	1	„
0·00001	„	7	4 leben; 3 † in 1/2 bis 2 1/2 Stunden
0·00005	Kontrollen	3	† in 15 bis 20 Minuten
0·00005	0·02	2	† in 1/2 bzw. 2 Stunden
0·00005	0·03	2	† in 1 1/2 „ 4 „
0·00005	0·05	2	leben
0·0001	Kontrollen	5	†; 2 sofort, 3 in 1/2 bis 1 1/2 Minuten
0·0001	0·03	3	1 lebt, 2 † in 30 Minuten
0·0001	0·1	3	† in 12 bis 30 Minuten
0·0001	0·3	2	leben
0·0001	0·5	2	„
0·0001	1·0	2	„
0·0005	Kontrolle	1	† sofort bei der Injektion
0·0005	1·0	2	† nach 1/2 bis 1 Minute



Tabelle V.
Versuche an Kaninchen von 1600 bis 1800 grm mit Kobragift.
Zuerst wird das Serum, dann $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde später das Toxin intravenös injiziert.

Toxinmenge	Serummenge	Anzahl der Tiere	Ausgang
0·0003	Kontrolle	1	lebt
0·0005	Kontrollen	2	1 lebt, 1 † nach $1^1/_2$ Stunden
0·001	Kontrollen	3	† in $2^1/_2$ bis 3 Stunden
0·001	0·25	2	† innerhalb 20 „
0·001	0·5	2	leben
0·001	0·75	2	„
0·001	1·0	1	lebt
0·002	Kontrollen	3	† nach 15 Minuten
0·002	0·25	1	† „ $1^1/_4$ Stunden
0·002	0·5	1	† „ $2^1/_4$ „
0·002	0·75	1	† „ 48 „
0·002	1·0	1	lebt
0·002	2·0	1	„
0·01	Kontrolle	1	† nach 5 Minuten
0·01	5·0	1	† „ 15 „
0·01	7·5	1	† „ 25 „
0·01	10·0	3	1 überlebt (nachträgl. nach 10 Tagen †), 2 † in 2 bzw. 45 Minuten

Wir haben zunächst in ähnlicher Weise wie in den Versuchen mit den beiden anderen Giften bei Mäusen und Kaninchen die Serumdosen bestimmt, die zum Schutz gegen verschiedene Multipla des Giftes notwendig sind, wenn zuerst das Serum und bald danach das Gift intravenös gegeben wird (Tabelle IV und V).

Es war uns in diesem Falle nicht möglich, so große Multipla des Giftes zu verwenden wie in den früheren Versuchen, da wir die Serummenge nicht unbegrenzt steigern können. Trotzdem läßt sich ohne weiteres erkennen, das die quantitativen Verhältnisse hier andere sind wie beim Diphtherie- und Botulinusgift.

Sowohl bei der Maus wie beim Kaninchen ist nämlich zum Schutze gegen größere Giftdosen relativ **mehr** Antitoxin erforderlich wie zum Schutze gegen kleinere Dosen. Wir haben bei Kaninchen mit einer Giftdosis begonnen, die nur wenig über der tödlichen Minimaldosis liegt, bei Mäusen mit der annähernd fünffachen Minimaldosis. Steigerten wir nun diese Giftdosen im Verhältnis 1:2:10, so wuchsen die zum Schutze erforderlichen Serummengen bei der Maus etwa wie 1:6:? (> 20), beim Kaninchen wie 1:2:? (> 20). Dabei ist der Ausfall der Versuche im

ganzen recht regelmäßig; nur eine Maus, die mit 0·0001 Gift und 0·03 Serum injiziert leben bleibt, fällt aus der Reihe heraus. Bemerkenswert ist die Verzögerung des Todes, die auch bei unzureichendem Serumschutz regelmäßig eintritt.

Auch in einem zweiten Punkte ist das Ergebnis überraschend; während nämlich bei unseren Versuchen mit Botulinusgift (und ebenso bei den Mischungsversuchen von Morgenroth mit Diphtheriegift an Kaninchen und Meerschweinchen) für die größere Tierart zur Neutralisierung der gleichen Giftmenge mehr Antitoxin nötig war als für die kleinere Tierart, ist es hier gerade umgekehrt. Dies gilt auch, wenn man die Verschiedenheit der tödlichen Giftdosis für beide Tierarten in Rechnung zieht. Wenn 0·002 Gift im Kaninchenversuch durch 1·0 Serum vollständig, durch 0·75 annähernd entgiftet erscheint, so ist in Wirklichkeit (nach Abzug der einfach tödlichen Dosis) jedenfalls mehr als 0·001 Gift neutralisiert worden; im Mäuseversuch genügt aber gegen die Hälfte dieser Giftmenge 1·0 Serum nicht mehr.

Wie ist dieses auffällige Verhalten zu erklären? Ohne Zweifel wird auch das Kobragift in verdünnten Lösungen mit seinem Antitoxin schlechter reagieren als in konzentrierten; wenn auch, wie noch zu erörtern sein wird, der Einfluß der Konzentration hier offenbar sehr viel geringer ist als bei den vorher untersuchten Toxinen, so werden immerhin auch hier bei dem kleineren Tiere die Bedingungen für die Neutralisierung etwas besser sein als beim größeren, und bei größeren Giftdosen etwas besser als bei kleinen. Wenn trotzdem der Ausgang der Tierversuche im entgegengesetzten Sinne zu sprechen scheint, so müssen wir uns daran erinnern, daß wir bisher nur die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin in Betracht gezogen, den Organismus aber gewissermaßen nur als den Indikator angenommen haben, der uns anzeigt, ob eine letale Giftdosis frei geblieben ist oder nicht. In Wirklichkeit spielt der Organismus nicht eine solche passive Rolle, sondern das injizierte Gift verteilt sich sogleich zwischen dem vorhandenen Antitoxin und denjenigen Geweben des Körpers, zu denen es eine Affinität besitzt. Ist diese Affinität relativ gering, so wird sie den Ablauf der Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin nicht sehr merklich beeinflussen. Nun ist aber die Affinität des Kobragiftes zu den giftempfindlichen Körperzellen außerordentlich viel stärker als die der beiden von uns bisher untersuchten Gifte. Dies geht schon aus der Inkubationszeit hervor; während beim Diphtherie- und Botulinusgift unsere Versuchstiere noch 6 bis 7 Stunden nach intravenöser Injektion der 400- bis 1000 fach tödlichen Dosis ganz gesund erschienen und erst am nächsten Morgen tot waren, starben beim Kobragift an der zehnfachen Dosis letal. Kaninchen etwa in 5 Minuten, Mäuse aber fast momentan nach



Beendigung der Einspritzung. Hiernach müssen wir uns vorstellen, daß das Kobragift sich namentlich bei der Maus außerordentlich schnell im Körper verteilt und aus der Blutbahn heraus von den empfindlichen Zellen angezogen wird. Auch diese Verteilung wird nach allgemeinem Gesetz aus einer konzentrierten Lösung heraus schneller erfolgen; daher wird bei größeren Dosen außerordentlich schnell die tödliche Giftmenge aus dem Blute verschwunden und damit für das Antitoxin unerreichbar sein. Auf diese Weise erklärt sich das ungünstige Ergebnis bei großen Giftdosen ebenso wie der Unterschied zwischen der Maus und dem Kaninchen. Bei einem so schnellwirkenden Gifte, wie es das Schlangengift ist, hängt also die Serumwirkung in sehr hohem Maße von der Empfindlichkeit des Versuchstieres ab. Die Unterschiede in der Giftempfindlichkeit der einzelnen Tierarten hat Calmette[1] daher mit Recht als ausschlaggebend bezeichnet, indem er sagt: „Die Menge des Serums, welche erforderlich ist, um die Vergiftung der Tiere durch eine gleichbleibende Giftdosis zu verhindern, muß um so größer sein, je empfänglicher für das Gift das betreffende Tier ist.“

Tabelle VI.

Versuche an Mäusen mit Kobragift.

Das Serum wird subkutan, das Gift 24 Stdn. später intraperitoneal eingespritzt.

Toxinmenge	Serummenge	Anzahl der Tiere	Ausgang
0·00001	Kontrollen	5	3 leben, 2 † in 5 bzw. 24 Stunden
0·00002	Kontrollen	5	† in $1^{1}/_{2}$ bis 5 Stunden
0·00002	0·03	6	† in 3 bis 24 „
0·00002	0·04	2	1 lebt, 1 † in 3 „
0·00002	0·05	2	1 „ 1 † innerhalb 20 Stunden
0·00002	0·06	2	leben
0·00002	0·075	3	2 leben, 1 † innerhalb 20 Stunden
0·00002	0·1	5	4 „ 1 † „ 20 „
0·0001	Kontrollen	6	† in 20 bis 30 Minuten
0·0001	0·1	3	† in etwa $1^{1}/_{4}$ Stunden
0·0001	0·3	3	† in 3 bis 5 „
0·0001	0·5	5	1 lebt, 4 † in $2^{1}/_{2}$, $4^{1}/_{2}$ bzw. 20 Stdn.
0·0001	1·0	2	1 „ 1 † nach 24 bis 48 Stunden
0·0001	2·0	1	lebt
0·0002	Kontrollen	2	† in 20 Minuten
0·0002	0·2	2	† in 25 bis 30 Minuten
0·0002	0·3	5	† durchschnittlich in 50 Minuten
0·0002	1·0	4	† „ in $1^{1}/_{4}$ Stunden
0·0002	2·0	4	† „ in $1^{1}/_{4}$ „

[1] *Kolle-Wassermanns Handbuch.* 1905. Bd. II. 2. Aufl.



Wir haben nun noch die gleichen Versuche an Mäusen gemacht, indem wir das Serum subkutan, das Gift aber am nächsten Tage intraperitoneal einspritzten (vgl. Tabelle VI).

Bei diesen Versuchen zeigte sich zunächst, daß die Inkubationszeit zwar länger war als bei intravenöser Einspritzung, daß aber die tödliche Minimaldosis die gleiche blieb.

Recht auffallend ist es nun, daß das Serum hier nicht unerheblich schlechter wirkte als bei intravenöser Giftzuführung; gegen die Giftdosis von 0·0001 gewährt hier selbst 1·0 Serum keinen ganz sicheren Schutz, während bei intravenöser Injektion schon 0·3 Serum dazu ausreicht. Man könnte daran denken, daß der schlechtere Ausfall der Versuche darauf beruht, daß von dem subkutan injizierten Serum am nächsten Tage der größte Teil schon wieder ausgeschieden, oder daß nicht genug davon in das Blut gelangt sein könnte. Es erscheint uns aber auch als möglich, daß hier etwas Ähnliches vorliegt, wie beim Danyszschen Versuche in vitro, daß nämlich das nach peritonealer Injektion allmählich ins Blut gelangende Gift schlechter neutralisiert wird, als wenn dieselbe Dosis auf einmal in die Blutbahn gebracht wird. Wir wollen jedoch diese Hypothese, die ja einer einfachen experimentellen Prüfung zugänglich ist, hier nicht weiter erörtern.

Schließlich haben wir zum Vergleiche die Wirkung des Kobraantitoxins im Mischungsversuch untersucht.

Tabelle VII.

A. Versuch an Kaninchen.

Das Kobragift wird mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0·5 ccm Volumen verdünnt, mit verdünntem Serum in vitro gemicht und die Mischung 5 Minuten danach Kaninchen intravenös eingespritzt.

0·002 Gift	+ 0·75	Serum:	lebt.
0·002 „	+ 0·5	„ :	† in $1^1/_2$ Stunden.
0·002 „	+ 0·25	„ :	† „ 45 Minuten.
0·002 „	+ 0·1	„ :	† „ 25 „
0·002 „	(Kontrolle)	:	† „ 15 „

B. Versuch an Mäusen.

Gift und Serum werden in derselben Weise gemischt und nach 5 Minuten intravenös eingespritzt.

0·002 Gift + 1·0 Serum (2 Mäuse): sterben fast momentan.

Wie die Tabelle zeigt, ist die Schutzkraft des Serums beim Kaninchen gegenüber derselben Giftdosis von 0·002 (tödliche Minimaldosis zwischen



0·0005 und 0·001) kaum größer, wenn die Mischung in vitro erfolgt, als bei getrennter Injektion; 0·75 ccm Serum schützt im ersteren Falle noch gerade, im letzteren verzögert diese Dosis den Tod bereits sehr stark, und die nächsthöhere Dosis schützt vollständig. Hieraus geht hervor, daß die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin in diesem Falle durch die Verdünnung der Blutmasse des Kaninchens nur unwesentlich gehemmt wird, während dies beim Botulinusgift bei gleicher Versuchsanordnung in sehr hohem Maße der Fall war. Gerade dieser Vergleich zwischen dem Mischungsversuche und den Versuchen mit getrennter Injektion zeigt am deutlichsten, wie stark die Affinität zwischen dem Kobragift und seinem Antitoxin sein muß.

Auch im Mischungsversuche ergibt die Prüfung bei der Maus wieder ein ungünstigeres Resultat, indem selbst die Mischung von 1·0 Serum zu 0·002 Gift tödlich wirkt; dabei sind aber rechnerisch wieder die Minimaldosen zu berücksichtigen, so daß von der obigen Giftmenge im Kaninchenversuche tatsächlich wenig mehr als 0·0015, im Mäuseversuche aber mehr als 0·0019 gebunden sein muß, um die Mischung als indifferent erscheinen zu lassen.

Allgemeine Ergebnisse.

Wenn wir zum Schluß unsere Ergebnisse unter einen allgemeinen Gesichtspunkt bringen wollen, so kann es nur der sein, dessen fundamentale Bedeutung Ehrlich schon früh erkannt, und auf den er immer wieder und von immer neuem Standpunkte aus hingewiesen hat: nämlich der Gesichtspunkt der Verteilung der wirksamen Stoffe im Organismus. In unseren Versuchen verteilt sich das injizierte Gift zunächst auf Grund seiner Affinität zwischen dem in der Blutbahn kreisenden Antitoxin und den Körperzellen. Die Schnelligkeit dieser Verteilung ist nun in den untersuchten Fällen offenbar außerordentlich verschieden.

Was zunächst die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin betrifft, so vereinigt sich das Kobragift äußerst schnell mit dem Antitoxin, sonst wäre es undenkbar, daß gegen die intravenöse Injektion einer Giftdosis, die die Kontrolltiere in wenigen Minuten oder gar in Bruchteilen einer Minute tötet, ein Serumschutz überhaupt noch möglich ist. Weit langsamer erfolgt dagegen die Vereinigung von Toxin und Antitoxin beim Botulinusgift. Trotz der langen Inkubationszeit dieses Giftes kommt daher, wenigstens bei kleinen Toxin- und Antitoxinmengen nur ein geringer Bruchteil des Antikörpers zur Wirkung. Wie unvollkommen beim Botulinustoxin-Antitoxin die Bindung abläuft, zeigt sich besonders auch darin, daß die Differenz gegenüber dem Wert im Mischungsversuch so stark ist;



in letzterem Falle genügt zur Neutralisierung einer kleinen Giftdosis $^1/_{40}$ der bei getrennter Injektion am Kaninchen notwendigen Serummenge, während beim Kobragift beide Werte beinahe zusammenfallen. Aber auch im Vergleich mit dem Diphtherieantitoxin erscheint das Botulinus-antitoxin als wenig „avid". Hiernach dürfen wir annehmen, daß das Botulinustoxin eine geringere Affinität zu seinem Antikörper, d. h. eine trägere Reaktionsfähigkeit als das Kobragift besitzt, und daß das Diphtherietoxin in der Mitte zwischen beiden steht.

Nun ist die Schnelligkeit dieser Reaktion weiterhin von zwei Faktoren abhängig: nämlich von der Konzentration der reagierenden Stoffe und von dem Medium, in dem die Reaktion vor sich geht. In starken Konzentrationen ist die Verteilung der Stoffe beschleunigt; das Gift tritt schneller an das Antitoxin heran. Was das Medium betrifft, so ist nach den oben zitierten Beobachtungen von Ungermann und Kandiba und Barikine anzunehmen, daß die Vereinigung aller Antikörper mit ihren Antigenen in Kochsalzlösung schneller und vollständiger vor sich geht, als im Serum oder Blut; es ist das von Ungermann und Kandiba als Spezialfall des die chemisch-physikalischen Reaktionen beherrschenden „Verteilungsgesetzes" gedeutet worden. Bei der am trägsten verlaufenden Reaktion, die wir gefunden haben, nämlich der zwischen Botulinusgift und Antitoxin, ist auch der hemmende Einfluß sowohl der Verdünnung als des Mediums weitaus am stärksten: hier ist die Abweichung vom Gesetz der Multipla zu Ungunsten der Neutralisierung kleinerer Giftdosen und ebenso die Differenz zwischen dem Antitoxinbedarf im Mischungsversuch (also in Kochsalzlösung als Medium) und bei getrennter Injektion (im Blut als Medium) auffallend groß.

Da wir nur je eine Antitoxinprobe untersucht haben, so ergaben unsere Experimente keinen Anhaltspunkt zur Beantwortung der Frage, ob gegenüber dem gleichen Gift verschiedene Sera eine verschiedene Affinität zeigen; bereits oben wurde aber auf die Möglichkeit hingewiesen, nach derselben Versuchsanordnung diese Frage zu untersuchen.

Für die Verteilung und damit für die Wirkung des Toxins ist nun aber neben der Affinität zum Antitoxin auch die Affinität des Toxins zu den giftempfindlichen Geweben des Organismus zu berücksichtigen. Diese werden in jedem Falle alsbald einen gewissen Bruchteil des Toxins an sich ziehen, doch ist dieser Bruchteil wenigstens bei den von uns angewandten Dosen in den Versuchen mit Botulinus- und auch noch in denen mit Diphtheriegift so gering, daß er die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin nicht merklich beeinflußt; es überwiegt der Einfluß der Verdünnung auf den Ablauf der Toxin-Antitoxinreaktion. Ganz anders



beim Kobragift: Von diesem bindet sich insbesondere bei der Maus bei der Injektion etwas größerer Giftmengen fast momentan eine tödliche Dosis an die empfindlichen Zellen. Das Gift besitzt also eine außerordentlich leichte Reaktionsfähigkeit nicht nur dem Antitoxin, sondern auch den Körpergeweben gegenüber; dadurch erklärt sich wohl das von den anderen Versuchen abweichende Ergebnis des vermehrten Antitoxinbedarfs bei steigender Giftdosis. Inwieweit diese schnellere Reaktionsfähigkeit auf einfachen Lösungsverhältnissen des Toxins beruht, bedarf noch weiterer Untersuchungen; nach den bisherigen Ergebnissen scheint es uns jedoch nahe zu liegen, die Ursache der gefundenen Differenzen im chemischen Charakter der betreffenden Toxine, nicht in Aviditätsunterschieden der Antikörper zu suchen. Hervorgehoben sei, daß nach den Versuchen von Dold und Ungermann im Vergleich mit anderen Toxinen das Kobragift sich besonders schnell in den Lipoiden des Serums zu lösen scheint.[1]

Im Grunde handelt es sich, wenn sich das Kobratoxin in unseren Versuchen bei steigenden Multipla bezüglich der Neutralisierung durch Serum umgekehrt verhält, wie die beiden anderen untersuchten Gifte, doch wohl nur um (allerdings sehr erhebliche) graduelle Unterschiede. Wie schon Dönitz aus seinen Versuchen geschlossen hat, wird bei allen Giften bei Zufuhr steigender Mengen immer schneller eine einfach tödliche Dosis vom Körper gebunden, und wenn wir bei den Diphtherieversuchen die Giftdosis erheblich weiter steigern könnten, so wäre wohl zu erwarten, daß wir bald an einen Punkt kommen würden, wo sich das Verhältnis umkehrt und wo, wie bei unseren Versuchen mit Kobragift, die Verteilung der eingeführten Giftmenge so weit zu Ungunsten des im Blute kreisenden Antitoxins erfolgt, daß schnell eine tötliche Dosis an die Körperzellen verankert ist.

Schlußfolgerungen.

Bei getrennter Einführung von Gift und Antitoxin, wobei zuerst das Serum, dann kurze Zeit danach das Gift intravenös eingespritzt wird, zeigt sich beim Botulinusgift eine starke, beim Diphtheriegift eine weit

[1] Nach den Beobachtungen von de Waele und von Dold u. Ungermann (*Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. XI. S. 86) läßt sich die Inkubationszeit der Toxine durch vorhergehende Digestion derselben in vitro mit frischem Serum sowie mit geeigneten Lipoidemulsionen erheblich verringern; hierzu genügte nun nach den letztgenannten Autoren beim Kobragift schon eine verhältnismäßig kurze Bebrütung, das Gift geht also offenbar aus wässeriger Lösung schnell in die Serumlipoide über.



schwächere Abweichung vom Gesetz der Multipla in dem Sinne, daß größere Giftmengen relativ weniger Antitoxin zur Neutralisierung brauchen. Bei Steigerung der Giftmengen im Verhältnis von 1:10:100 steigen die entsprechenden Serummengen beim Botulinustoxin annähernd wie 1:2·5:10, beim Diphtherietoxin wie 1:10:66.

Bei größeren Tieren (Kaninchen) ist bei der gleichen Versuchsanordnung zur Neutralisierung der gleichen Menge von Botulinusgift erheblich mehr Antitoxin erforderlich, als bei kleinen (Mäusen).

Wird Botulinusgift und Antitoxin kurze Zeit vor der Einspritzung in die Blutbahn des Kaninchens in vitro gemischt, so ist erheblich weniger Antitoxin notwendig, als bei getrennter Injektion; die Differenz ist um so größer, je kleiner die Giftmengen sind. Bei der zehnfachen Dos. min. let. ist das Verhältnis etwa wie 1:40.

Diese quantitativen Verhältnisse lassen sich durch den Einfluß erklären, den die Konzentration der reagierenden Stoffe und das Medium, in dem die Reaktion abläuft, auf die Bindung von Toxin und Antitoxin ausüben; in konzentrierten Lösungen geht die Reaktion besser vor sich, als in schwachen Lösungen, und in Kochsalzlösung besser, als in der Blutflüssigkeit. Der hemmende Einfluß der Verdünnung und des ungünstigen Mediums (Blut) ist am stärksten beim Botulinustoxin, das eine schwächere Affinität zum Antitoxin besitzt und träger mit demselben reagiert, als das Diphtherietoxin mit seinem Antitoxin.

Ob verschiedene gegen dasselbe Toxin gerichtete Antisera verschieden schnelle Reaktionsfähigkeit besitzen, kann nach der gleichen Methode untersucht werden; dabei würden Versuche mit kleinen Gift- und Serumdosen die deutlichsten Ausschläge ergeben.

Beim Kobragift ergibt sich ein umgekehrtes Verhalten: Hier ist zur Neutralisierung großer Giftmengen relativ mehr Antitoxin erforderlich als bei kleinen; ein größeres Versuchstier (Kaninchen) braucht wiederum zur Neutralisierung derselben Giftdosis absolut weniger Serum als ein kleineres Tier (Maus).

Diese Verhältnisse sind wohl dahin zu deuten, daß das außerordentlich reaktionsfähige, in den Körperflüssigkeiten offenbar sehr schnell lösliche Kobragift sich nicht nur an sein Antitoxin, sondern auch an die giftempfindlichen Zellen des Organismus sehr viel schneller bindet, als die beiden anderen untersuchten Gifte, am schnellsten bei der empfindlichsten Tierart, der Maus, bei der die Inkubationszeit bei intravenöser Einführung etwas größerer Dosen nur Bruchteile einer Minute beträgt. Da die Bindung an die empfindlichen Zellen um so schneller erfolgt, je mehr Gift in den Kreislauf eingeführt wird, so wird bei Steigerung der Giftdosis ein Schutz durch Serum bald unmöglich.



Durch die starke Affinität zwischen Kobragift und Antitoxin erklärt es sich auch, daß im Kaninchenversuch zur Neutralisierung der doppelt tödlichen Dosis in vitro kaum weniger Serum erforderlich ist als bei getrennter Einspritzung.

Bei intraperitonealer Giftzufuhr ist die Schutzwirkung des Kobraantitoxins schlechter als bei intravenöser Injektion; dieses Verhalten bedarf noch der Aufklärung.

In praktischer Hinsicht sind vielleicht die Versuche mit Diphtherieantitoxin von Interesse, denen zufolge das Serum noch in recht starker Verdünnung im Tierkörper sich verhältnismäßig gut mit dem Toxin verbindet; die Ergebnisse sprechen in dem Sinne, daß auch beim Menschen entsprechend den bei der ersten Einführung des Heilserums gemachten Beobachtungen schon kleine Dosen eine Wirkung erwarten lassen, und daß jedenfalls bei den rechtzeitig in Behandlung kommenden Fällen eine übermäßige Steigerung der Antitoxindosis durch das Laboratoriumsexperiment nicht begründet erscheint.



[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld.)

Über die Wirkungsweise des Rotlaufimmunserums.

Von

Marine-Oberstabsarzt Dr. **Gräf,**
kommandiert zum Institut.

Mesnil hat bereits 1898[1] beobachtet, daß bei Mäusen, die mit Rotlaufserum passiv immunisiert waren, die Infektion mit Rotlauf in anderer Weise verläuft wie bei nicht geschützten Tieren. Bei den nicht geschützten Tieren beginnt die Phagozytose spät, ist stets unvollständig und geschieht überwiegend durch große mononukleäre Zellen; bei den immunisierten Tieren setzt die Phagozytose früh ein, ist viel stärker und wird zunächst hauptsächlich durch polynukleäre Leukoyzten bewirkt, in deren Innerem die Bazillen verhältnismäßig bald degenerieren. Mesnil sieht hiernach die Wirkung der Immunsera in einer spezifisch gesteigerten Phagozytose.

Neufeld und Kandiba[2] (auf deren Arbeit bezüglich der übrigen Literatur verwiesen sei) haben diese Beobachtungen vollkommen bestätigt und durch weitere Versuche, insbesondere Phagzoytoseversuche in vitro vervollständigt. Sie fanden, daß die Phagozytose speziell der polynukleären Leukozyten bei der künstlichen Rotlaufimmunität eine wichtige Rolle spielt, und sie sehen in der spezifischen bakteriotropen Wirkung die Ursache der Schutz- und Heilkraft des Rotlaufimmunserums. Wenn Neufeld und Kandiba auch die Mitwirkung anderer Immunstoffe nicht ausschließen wollen, so finden sie doch keine bestimmten Anhaltspunkte dafür, insbesondere nicht für die Wirkung von „Antiaggressinen“, wie sie von Spät angenommen werden.

---

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII. p. 481.

[2] *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1912. Bd. XL. S. 1.



Gegen diese Anschauung hat sich nun Spät[1] in einer neuen Arbeit gewandt. Er kommt im Gegensatz zu den Anschauungen von Neufeld und Kandiba zu dem Ergebnis, daß der Schutzwert des Rotlaufimmunserums auf Antiaggressine zurückzuführen ist.

Weitere Untersuchungen und Forschungen nach den wirksamen Stoffen des Rotlaufserums sind zweifellos wünschenswert. Die Frage ist ja vor allem deshalb von so großem allgemeinen Interesse für die Immunitätslehre, weil das Rotlaufserum eines der wirksamsten antibakteriellen Sera ist, die wir kennen. Da man auch bei anderen in praxi bewährten antiinfektiösen Seris, wie Rinderpest- und Milzbrandserum, über die Art der Wirkung nichts Sicheres wußte, so lag in der Tat der Gedanke nahe, in solchen Seris Immunstoffe bisher unbekannter Art anzunehmen. Wenn sich beweisen ließe, daß das Rotlaufserum seine Wirksamkeit nicht Lysinen oder Tropinen, sondern Antiagressinen verdankt, so würde man an die Möglichkeit denken müssen, daß andere antiinfektiöse Sera trotz hohen Gehalts an Lysinen und Tropinen in praxi vielleicht deshalb im Stich lassen, weil sie nicht antiaggressiv wirken, und man würde sich bemühen müssen, hauptsächlich antiaggressive Sera zu gewinnen.

Wenn also aus diesen Gründen eine weitere Prüfung der Rotlaufsera angezeigt ist, so erschien es insbesondere wünschenswert, die Phagozytoseversuche mit einer so hochvirulenten Rotlaufkultur zu wiederholen, wie sie von Spät benutzt wurde. Hr. Dr. Spät war so liebenswürdig, die Kultur dem Institut zuzusenden. So war es uns möglich, diese Kultur mit hiesigen Rotlaufkulturen vergleichend zu prüfen.

Wenn allerdings Spät von der Kultur, die Neufeld und Kandiba benutzten, sagt, sie sei so außerordentlich gering virulent, „daß ein solcher Stamm zur theoretischen Prüfung der Schutzwirkung eines Immunserums vollkommen ungeeignet ist“, wozu ja „ausschließlich infektiöse Stämme geeignet sind“, so ist dies wohl nicht ganz zutreffend. Diese Kultur hat in Späts eigenen Versuchen mit 0·01^{ccm} Mäuse getötet, wenn auch langsamer als andere Stämme. Wie in der Arbeit von Neufeld und Kandiba mitgeteilt ist, war die Virulenz der Kultur während der damaligen Versuche etwas wechselnd. Jetzt ist dieselbe Kultur (weiterhin bezeichnet als Kultur Frosch), die seiner Zeit von Hrn. Geh.-Rat Prof. Dr. Frosch überlassen worden war und die übrigens lange Zeit in der tierärztlichen Hochschule in Berlin zu Serumtitrierungen benutzt worden ist, mehrfachen Tierpassagen unterzogen worden. Das Ergebnis geht aus Tabelle I hervor. Ferner wurde zu weiteren Versuchen eine Rotlaufkultur herangezogen, welche aus dem Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. von Hrn. Dr. Bierbaum übersandt wurde (bezeichnet: Kultur Bierbaum).

[1] *Diese Zeitschrift.* 1913. Bd. LXXIII. S. 224.



Tabelle I.

Virulenzprüfung 16. VIII. 12.

48 stündige Bouillonkultur. Mäusen intraperitoneal injiziert.

Kultur Spät	Kultur Frosch nach mehrfachen Tierpassagen
0·01 ccm Bouillonkultur † nach 2 Tagen	0·01 ccm . . . . † nach 3 Tagen
0·001 ccm „ † „ 2 „	0·001 ccm . . . . † „ 3 „
0·0001 ccm „ † „ 3 „	0·0001 ccm . . . † „ 4 „
0·00001 ccm „ † „ 4 „	0·00001 ccm . . . † „ 4 „
0·000001 ccm „ † „ 4 „	0·000001 ccm . . . † „ 4 „

Stets wurden aus dem Herzblut der Mäuse Rotlaufbakterien gezüchtet.

Hiernach läßt sich also auch die Kultur Frosch erheblich in der Virulenz steigern, allerdings tötet sie immer etwas langsamer als die Spätsche Kultur. Zu berücksichtigen ist bei vergleichenden Versuchen, daß die Kultur Spät ein etwas stärkeres Wachstum in der Bouillonkultur zeigte. Vergleiche das Ergebnis der Plattenaussaaten. Die Morphologie der 3 Rotlaufstämme betreffend sei erwähnt, daß die Kultur Frosch durchgehend dickere und längere Bazillen aufwies als die beiden anderen benutzten Kulturen Spät und Bierbaum.

Tabelle II.

Virulenzversuch und Keimzählung 28. VIII. 12.

2 tägige Bouillonkultur. Mäusen intraperitoneal injiziert.

Kultur Spät	Kultur Frosch
0·00001 ccm . . . . † nach 3 Tagen	0·00001 ccm . . . † nach 3 Tagen
0·0000001 ccm . . . † „ 4 „	0·0000001 ccm . . † „ 5 „
0·000000001 ccm . . lebt	0·000000001 ccm . lebt

Aus dem Herzblut der gestorbenen Mäuse wurden Rotlaufbakterien gezüchtet.

Von derselben Bouillonkultur wurden dieselben Verdünnungen auf Gelatineplatten ausgesät.

Kultur Spät.	Auf der Platte mit	0·00001 ccm	etwa 2500	Kolonien
	„ „ „ „	0·0000001 ccm	„ 61	„
	„ „ „ „	0·000000001 ccm	„ —	„
Kultur Frosch	„ „ „ „	0·00001 ccm	„ 1300	„
	„ „ „ „	0·0000001 ccm	„ 11	„
	„ „ „ „	0·000000001 ccm	„ —	„



Hiernach können wir die Angabe von Spät u. a.[1] bestätigen, daß Rotlaufstämme sich zu annähernd maximaler Virulenz für Mäuse anzüchten lassen; dies war sogar bei einem Stamme möglich, den Spät gar nicht zu den infektiösen gerechnet hatte.

Da die Virulenz der Rotlaufbazillen, wenn dieselben nicht dauernd Tierpassagen unterworfen werden, nach unseren Erfahrungen eine ziemlich wechselnde ist, so haben wir eine Konservierung der Virulenz durch Aufbewahrung von Blut und Organstücken infizierter Tiere im Exsikkator versucht, wie sie sich bekanntlich bei manchen speziell septikämischen Bakterien bewährt hat. Am 6. XII. 12. wurde Blut in dicker Schicht und Stücke von Milz einer Maus (Blut auch von einer Taube) in den Exsikkator gelegt. Am 31. V. 13. wurde eine Verreibung dieses Materials einer Maus intraperitoneal eingespritzt. Tod nach 3 Tagen. Aus dem Herzblut dieser Maus wurden Rotlaufbazillen reingezüchtet und auf Virulenz geprüft; $0 \cdot 0001^{ccm}$ einer 24-Stunden-Bouillonkultur tötete in 4 Tagen; $0 \cdot 000001^{ccm}$ derselben Bouillonkultur tötete in 5 Tagen. Aus dem Herzblut dieser beiden Mäuse wurden Rotlaufbazillen gezüchtet. Die Virulenz des Materials hat sich also längere Zeit hindurch gleichmäßig erhalten.

Vor allem war nun zu untersuchen, wie sich der hochvirulente Rotlaufstamm Spät im Phagozytoseversuch verhielt; natürlich war vorher festzustellen, ob das dabei angewandte Immunserum gegen diesen Stamm im Tierversuch gut schützt, andernfalls würde selbstverständlich ein negativer Ausfall des Versuchs in vitro nichts beweisen.

Bei den Versuchen kamen folgende Sera zur Anwendung: 1. Rotlaufserum aus dem bakteriologischen Institut Dr. Kirstein, 2. Rotlaufserum Höchst (Susserin) und 3. mehrere Sera aus dem Institut Jenner-Pasteur in Budapest des Hrn. Dr. Detre. Hrn. Dr. Detre sei auch an dieser Stelle für die Zusendung verschiedener Rotlaufsera gedankt.

Im Tierversuch an Mäusen, nach der Methode von Marx geprüft, unterschieden sich die Sera nicht erheblich von einander; sie schützten nicht nur gegen die Kultur Frosch, sondern auch gegen die Kultur Spät, wenngleich hier in einigen Versuchen das Ergebnis schlechter war.

Über die Wirkung in vitro geben die nachfolgenden Tabellen III und IV Auskunft.

In diesen Versuchen wurde also auch der hochvirulente Stamm Spät im Phagozytoseversuch in vitro spezifisch beeinflußt, und somit die mit anderen Stämmen erhaltenen Ergebnisse von Staal, Neufeld und Kandiba bestätigt. Der Grad der spezifischen Phagozytose ist, wie auch sonst bei derartigen Versuchen, wechselnd, was wohl hauptsächlich auf Verschiedenheit der jeweiligen Leukozytenaufschwemmung beruht.

[1] Vgl. Stickborn, *Centralblatt f. Bakteriologie.* Orig. Bd. L.

Tabelle III.

Phagozytoseversuch in vitro. Technik nach Neufeld-Hüne.

Zwei Immunsera (Serum Detre und „Susserin Höchst") und ein Kontrollserum (Botulismuspferdeserum) untersucht mit Meerschweinchenleukozyten. Benutzt wurden dichte Bakterienemulsionen.[1]

Entnahme nach $1^1/_2$ Stunden. Färbung mit altem Methylenblau.

Serummenge in ccm	Stärke der Phagozytose			
	Kultur Spät			Kultur Frosch
	Serum Detre	Serum Susserin Höchst	Kontrollserum	Serum Detre
0·01	stark	stark	fast 0	stark
0·003	„	mäßig	—	„
0·001	mäßig	—	—	„
0·0003	—	—	—	mäßig
Kontrollen mit Kochsalzlösung	—	—	—	geringe Spontanphagozytose

Tabelle IV.

Phagozytoseversuch in vitro. Technik nach Neufeld-Hüne.

Ein Immunseum „Serum Detre" und ein Kontrollserum (Botulismuspferdeserum). Rotlaufkultur Spät und Rotlaufkultur Bierbaum. Meerschweinchenleukozyten.

Entnahme nach $1^3/_4$ Stunden. Färbung mit altem Methylenblau.

Serummenge in ccm	Stärke der Phagozytose			
	Kultur Spät	Kultur Bierbaum	Kultur Spät	Kultur Bierbaum
	Serum Detre	Serum Detre	Kontrollserum	Kontrollserum
0·01	stark	stark	—	—
0·003	„	„	—	—
0·001	„	„	—	—
0·0003	„	„	—	—
Kochsalzkontrolle	—	—	—	—

Ob bei dem negativen Ergebnis, das Spät selbst bei seinen einschlägigen Versuchen hatte, etwa Hemmungserscheinungen eine Rolle spielen, wie sie von Ungermann, Bürgers u. a. bei Phagozytoseversuchen in vitro mit Strepto- und Pneumokokken nicht selten beobachtet worden sind, müssen wir dahingestellt sein lassen. In einer Hinsicht sind die von

[1] Vgl. Neufeld u. Kandiba, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XL.



Spät mitgeteilten Phagozytoseversuche in vitro nicht vollständig. Der Autor ist mit den Verdünnungen nicht tiefer gegangen als $0 \cdot 001^{\text{ccm}}$ und gibt als Grund dafür an, daß das Rotlaufserum in geringerer Verdünnung in vivo nicht mehr wirksam war. „Die Untersuchung noch niedrigerer Verdünngen war demnach zwecklos. Wenn solche Sera, wie Neufeld und Kandiba nachgewiesen haben, auch in schwächerer Konzentration noch eine starke Phagozytose zeigen, so spricht gerade dieser Befund gegen die Bedeutung der Phagozytose für die Schutzwirkung des Serums". Ein solch schematischer Vergleich der Versuche in vivo und in vitro ist nicht ohne weiteres zulässig. Von anderen Differenzen abgesehen ist nicht nur die absolute Menge des Serums, sondern auch die Konzentration zu berücksichtigen (Vergl. Ungermann und Kandiba, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 40). Wenn z. B. beim Versuch in vitro das Gesamtvolumen $0 \cdot 2^{\text{ccm}}$ ist (wie bei unseren Versuchen), so entspricht 0.001 Serum einer Konzentration von 1:200, bei den Versuchen in vivo würde dagegen die gleiche absolute Serummenge viel stärker verdünnt werden. Die Annahme von Spät, daß die starke Phagozytose in vitro in schwächeren Konzentrationen als die, welche im Tierversuch wirksam sind, gegen die Bedeutung der Phagozytose für die Schutzwirkung des Serums spräche, ist also nicht angängig. Abgesehen davon steht auch der Befund von von Spät, daß bis $0 \cdot 001^{\text{ccm}}$ herab Normalserum und spezifisches Serum gleich starke Phagozytose bewirken, sowohl mit den Beobachtungen von Neufeld und Kandiba, als auch mit den nach anderer Versuchstechnik ausgeführten Versuchen von Staal[1] und Banzhaf[2] in Widerspruch.

Was die Phagozytose im Tierkörper betrifft, so geht wohl aus dem sogleich zu erwähnenden Versuch von Spät selbst die phagozytosefördernde Wirkung des Immunserums gegenüber seiner Kultur in vivo hervor. Wir haben, da die Kultur Spät erheblich virulenter ist, als die in den früheren Versuchen benutzten Stämme, besonders darauf geachtet, ob etwa bei dieser Kultur die Kontrolltiere eine geringere Phagozytose zeigen würden als bei den anderen Kulturen. Dies ist nicht der Fall; vielmehr findet sich auch hier im Peritoneum, im Netz und anderen Organen von unbehandelten Mäusen eine beträchtliche Phagozytose und zwar überwiegend, aber nicht ausschließlich von mononukleären. Es liegen also auch bei Benutzung höchst virulenter Kulturen die Verhältnisse nicht so klar wie bei Strepto- und Pneumokokken, wo bei hochvirulenten Stämmen sowohl in vivo als auch in vitro so gut wie gar keine Spontanphagozytose zu beobachten ist.

---

[1] Staal, *Centralblatt f. Bakteriologie.* Orig. Bd. XLIX. S. 226.

[2] Banzhaf, *Inaug.-Dissert.* Gießen 1909.

Daß das Rotlaufserum in vivo phagozytosebefördernd wirkt, dafür sprechen auch die von Spät[1] mitgeteilten Bindungsversuche. Maus VII, welche mit Rotlaufserum sensibilisierte Rotlaufbazillen intraperitoneal injiziert erhalten hatte, zeigte nach 15 Stunden eine sehr starke Phagozytose. Maus VIII, welcher mit normalem Pferdeserum behandelte Rotlaufbazillen intraperitoneal injiziert waren, zeigte nur eine geringe Phagozytose im Peritonealexsudat. Dieser Befund steht also in einem Widerspruch mit den Ergebnissen, welche Spät in vitro erhielt, wobei Immunserum und Normalserum gleichstarke Phagozytose hervorriefen. Spät selbst schließt anscheinend aus diesen Versuchen, daß das Immunserum im Tierkörper phagozytoseerregend wirkt, er glaubt aber, daß die Phagozytose nicht die Ursache der spezifischen Immunität sein kann, weil in dem angeführten Versuch zwar starke Phagozytose, aber kein Schutz festzustellen war. Also sei die Phagozytose nur eine Nebenwirkung des Immunserums; der eigentliche Schutzstoff dieses Serums, das Antiaggressin, werde nicht an die Bakterien gebunden.

Diese Versuche sind unseres Erachtens nicht beweisend. Wie aus den schon zitierten Untersuchungen von Ungermann und Kandiba hervorgeht, ist bei septikämischen, hochvirulenten Erregern ein Serumschutz nur dann zu erwarten, wenn der ganze Organismus mit Antistoffen durchtränkt ist; „diese Verteilung der Immunsubstanzen muß nun, wenn der Schutz ein sicherer sein soll, einen solchen Grad erreichen, daß jeder kleine Bezirk, der zum Ansiedlungsbereich für einen der septikämischen Keime werden kann, die zu dessen Sensibilisierung notwendige Antikörpermenge besitzt. Andernfalls wird es bei der enormen Virulenz der Keime keinen großen Unterschied ausmachen, ob wenige oder viele der Sensibilisierung und Vernichtung entgehen".

Es ist nach Versuchen mit anderen Antiseris a priori wohl gar nicht zu erwarten, daß bei der Mischung in vitro die Antikörper restlos an die Bazillen gebunden sein sollten. Wenn aber auch nur einzelne Bazillen der vollständigen Sensibilisierung entgehen, so müssen sie sich im Tierkörper (in den ja bei den diesbezüglichen Versuchen weiter kein Serum eingebracht wird) ungehemmt vermehren. Es ist daher von vornherein bei der Injektion derartig sensibilisierter septikämischer Bakterien wohl kein anderes Resultat zu erwarten, als es in der Tat von Spät beobachtet worden ist, nämlich Tod der Tiere trotz verstärkter Phagozytose.

Bezüglich der Behauptung von Spät, die nachträglichen Todesfälle bei Serumtieren seien nur bei der Annahme von Antiaggressinen, nicht von Tropinen als wirksames Agens des Immunserums zu erklären, sei auf die Ausführungen bei Neufeld und Kandiba verwiesen.

[1] A. a. O. S. 240.



Großes Gewicht legt Spät wieder auf den negativen Ausfall der Erschöpfungsversuche[1]; er folgert daraus, daß die wirksamen Serumstoffe des Rotlaufimmunserums an die Bakterien nicht gebunden werden. Die Bedenken gegen diese Schlußfolgerungen sind bereits von Neufeld und Kandiba dargelegt worden. Es erübrigt sich, auf diesen Punkt einzugehen, da derselbe in einer demnächst erscheinenden Arbeit von Ungermann eingehend behandelt werden soll.

Wenn Spät als Hauptursache für die natürliche Immunität gegen Rotlauf eine sehr starke Keimtötung durch die Sekretionsprodukte der weißen Blutkörperchen der resistenten Tiere annimmt, so steht das mit unseren Ausführungen in keinem Gegensatz. Die natürliche Immunität kann gegenüber dem gleichen Erreger auf ganz anderem Mechanismus beruhen, als die erworbene.

Nach unseren Versuchen unterliegt also auch die höchstvirulente Kultur von Spät der spezifischen Phagozytose durch Rotlaufimmunserum. Es ist das die einzige spezifische Wirkung, die bisher mit Sicherheit in diesem Serum nachgewiesen werden konnte; daß auch noch andere Immunitätsvorgänge dabei mitspielen, ist nicht auszuschließen, aber bisher nicht bewiesen, speziell fehlt ein unzweideutiger Beweis für die Annahme einer antiaggressiven Wirkung des Serums.

---

[1] A. a. O. S. 230.



Schlafkrankheit und Tsetsefliegen.

(II. Mitteilung.)

Von

F. K. Kleine und **W. Fischer.**

Die durch das Trypanosoma gambiense verursachte Schlafkrankheit ist in Ostafrika an die Wohnsitze der Glossina palpalis gebunden, an die Ufer des Viktoriasees und des Tanganyikas. Wir mußten in unseren früheren Ausführungen es unentschieden lassen, ob bei dieser Tatsache die klimatischen Verhältnisse in den Seengebieten ausschlaggebend sind, oder ob gerade diese eine Art unter den Tsetsefliegen der geeignetste Wirt für den Erreger der Seuche ist. Die praktische Bedeutung der Frage liegt auf der Hand: sind Temperatur und Luftfeuchtigkeit maßgebend, so muß man bei ähnlichen klimatischen Bedingungen mit der Einschleppung der Schlafkrankheit auch dort rechnen, wo es keine Glossina palpalis, sondern nur die gewöhnliche Tsetsefliege, die weitverbreitete Glossina morsitans gibt. Ist aber die Glossina palpalis der hauptsächliche Faktor, so ist die Seuche auf den Standort des empfindlichen und anspruchsvollen Insekts beschränkt.

Um zu einer Entscheidung zu gelangen, führten wir streng parallele Übertragungsversuche mit laboratoriumgezüchteten Gl. palp. und Gl. mors. aus. Als Ort wählten wir einen Platz in schlafkrankheitsfreier Gegend und zwar in der Nähe des Rutschugipostens, etwa 6 Stunden nördlich von dem großen Karawanenweg zwischen Tabora und Udjidji. — Das Klima jener Gegend ähnelt im allgemeinen dem Steppenklima, heiße Tage und kühle Nächte. Es ist also ein anderes als wir es an den Herden der Schlafkrankheit finden. Unsere Versuche fielen in die Regenzeit.



Die für die Zucht nötigen Gl. mors. ließen wir in der weiteren Umgebung des Versuchslagers fangen. Die Puppen der Gl. palp. dagegen wurden zweimal im Monat von einer Station am Tanganyikasee, 6 Tagesmärsche, über das hohe Randgebirge hinweg zu uns gebracht. Für das Tr. gambiense benutzten wir als Ausgangsmaterial in 13 Versuchen 13 verschiedene Stämme, die wir durch Verimpfung von Blut schlafkranker Menschen auf Affen (Cercopith. rufov.) erhalten hatten. Die beiden Fliegenspezies wurden gleichzeitig oder unmittelbar hintereinander an denselben kranken Affen an 4 Tagen gefüttert und dann in der bekannten Weise immer neuen gesunden Affen angesetzt. Erkrankte ein Affe, so teilten wir die gesamten Fliegen des Experimentes in kleine Gruppen und ließen jede Gruppe zweimal an einem neuen gesunden Affen saugen, um auf diese Weise auch die Zahl der infektiös gewordenen Fliegen zu ermitteln. Ganz sicher ist dieser Weg freilich nicht; denn es können sich in einer Gruppe mehrere infektiöse Fliegen befinden. Für die Fütterung jeder einzelnen Glossine besonders reichte aber die Menge der verfügbaren Affen bei weitem nicht aus, und anderseits wäre die Präparation der Speicheldrüsen — zur Feststellung der Infektiosität — viel zu zeitraubend gewesen. Nach Beendigung der Gruppenfütterung töteten wir die Fliegen und fertigten von dem Leibesinhalt ein Ausstrichpräparat an. Die Anwesenheit von Trypanosomen zeigte, daß die betreffende Fliege, falls sie sich nicht durch den Tierversuch bereits als infektiös erwiesen hatte, bei längerer Ausdehnung des Experimentes doch noch vielleicht infektiös geworden wäre. — Die negativen Versuchsreihen wurden bis zum 70. Tage fortgeführt.

Versuch I. Beginn am 17. XI. 12.

A. 87 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 26. und 30. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 41. Tage wurden die überlebenden 47 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 3 von den Glossinen der übrigen Gruppen fanden sich Trypanosomen; ebenso in 1 Fliege, die am 23. Tage spontan einging.

B. 87 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 41. und 44. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 53. Tage wurden die überlebenden 51 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 2 Gruppen erkrankten die Affen, es waren mindestens 2 Fliegen infektiös. Außerdem fanden sich bei 6 weiteren Glossinen Trypanosomen; ebenso bei 1 Fliege, die am 36. Tage spontan einging.

Versuch II. Beginn am 28. XI. 12.

A. 56 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 31. und 35. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 46. Tage wurden die überlebenden 11 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 2 Fliegen, die am 21. und 35. Tage eingingen, fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

B. 56 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 36. und 40. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 51. Tage wurden die überlebenden 35 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 1 von den Glossinen der übrigen Gruppen fanden sich Trypanosomen; ebenso in 1 Fliege, die am 12. Tage spontan einging.

Versuch III. Beginn am 9. XII. 12.

A. 55 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 10 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert. In 1 am 35. Tage spontan eingegangenen Glossine fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

B. 55 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 16 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert. In 1 am 25. Tage eingegangenen Glossine fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

Versuch IV. Beginn am 21. XII. 12.

A. 52 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 5 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert. In 1 am 25. Tage, sowie in 1 am 30. Tage eingegangenen Glossine fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

B. 52 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 40. und 47. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 58. Tage wurden die überlebenden 16 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 2 von den Glossinen der übrigen Gruppen fanden sich Trypanosomen.

Infolge größerer Sterblichkeit waren die Chancen der Gl. palp. infektiös zu werden weit geringer als die der Gl. mors. Während zwischen dem 40. und 47. Tage noch 17 Gl. mors. lebten, war die Zahl der Gl. palp. schon auf 8 gesunken.



Versuch V. Beginn am 4. I. 13.

A. 68 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 41. und 43. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 54. Tage wurden die überlebenden 16 Fliegen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös.

B. 68 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 36. und 40. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 52. Tage wurden die überlebenden 22 Fliegen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war mindestens 1 Fliege infektiös. Außerdem fanden sich noch bei 4 weiteren Glossinen Trypanosomen.

Versuch VI. Beginn am 18. I. 13.

A. 73 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 20 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert.

B. 73 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 36. und 40. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 51. Tage wurden die überlebenden 22 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös.

Versuch VII. Beginn am 30. I. 13.

A. 66 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 26. und 30. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 40. Tage wurden die überlebenden 29 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In je 1 am 24. und 38. Tage spontan eingegangenen Glossine fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

B. 66 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 41. und 50. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 60. Tage wurden die überlebenden 29 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös.

Versuch VIII. Beginn am 6. II. 13.

A. 72 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 12 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert. In 1 am 18. Tage spontan eingegangenen Glossine fanden sich zahlreiche Trypanosomen.

B. 72 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 19 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert.

Versuch IX. Beginn am 23. II. 13.

A. 56 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 22. und 25. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 35. Tage wurden die überlebenden 16 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös.

B. 56 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 31. und 35. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 46. Tage wurden die überlebenden 25 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 4 von den Glossinen der übrigen Gruppen fanden sich Trypanosomen, ebenso in 1 Fliege, die am 13. Tage spontan einging.

Versuch X. Beginn am 10. III. 13.

A. 75 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Kein Affe erkrankte. Am 71. Tage wurden die überlebenden 6 Fliegen getötet, keine unter ihnen war infiziert.

B. 75 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 36. und 39. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 46. Tage wurden die überlebenden 37 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. In 3 von den Glossinen der übrigen Gruppen fanden sich Trypanosomen, ebenso in 1 Fliege, die am 45. Tage spontan einging.

Versuch XI. Beginn am 22. III. 13.

A. 76 Gl palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 31. und 35. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 46. Tage wurden die überlebenden 12 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war mindestens 1 Fliege infektiös. Außerdem fanden sich noch Trypanosomen in 1 zweiten Fliege derselben Gruppe.

B. 76 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 32. und 35. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 46. Tage wurden die überlebenden 44 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 2 Gruppen erkrankte der Affe, es waren mindestens 2 Fliegen infektiös. Außerdem fanden sich Trypanosomen in weiteren 2 Fliegen derselben Gruppe und in 3 Fliegen der übrigen Gruppen, ebenso in 2 Glossinen, die am 16. und 36. Tage spontan eingingen.

Versuch XII. Beginn am 28. III. 13.

A. 72 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 22. und 25. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 35. Tage wurden die überlebenden 14 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe,



es war 1 Fliege infektiös. Außerdem fanden sich Trypanosomen in 1 Glossine einer anderen Gruppe.

B. 72 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 41. und 46. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 53. Tage wurden die überlebenden 36 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 2 Gruppen erkrankten die Affen, es waren 2 Fliegen infektiös. Außerdem fanden sich Trypanosomen in 6 Glossinen der übrigen Gruppen und in 1 Fliege, die am 51. Tage spontan einging.

Versuch XIII. Beginn am 3. IV. 13.

A. 73 Gl. palp. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 23. und 25. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 35. Tage wurden die überlebenden 10 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. Außerdem fanden sich Trypanosomen in 1 Glossine, die am 25. Tage spontan einging.

B. 73 Gl. mors. kamen zur Verwendung. Der Affe, an dem die Fliegen zwischen dem 41. und 43. Tage gesogen hatten, erkrankte. Am 51. Tage wurden die überlebenden 37 Glossinen in kleine Gruppen geteilt und an verschiedenen gesunden Affen gefüttert. Bei 1 Gruppe erkrankte der Affe, es war 1 Fliege infektiös. Außerdem fanden sich Trypanosomen in 1 Glossine einer anderen Gruppe.

Folgende beiden Tabellen zeigen kurz das Ergebnis der Versuche. Aus Tabelle I ersehen wir, ob das Resultat positiv oder negativ war, und in Tabelle II ist die Anzahl der Tage vermerkt, welche die Entwicklung der Trypanosomen in den Fliegen in Anspruch nahm.

Tabelle I.

Stamm-Nr.	übertragen durch	
	Gl. palpalis	Gl. morsitans
I	+	+
II	+	+
III	0	0
IV	0	+
V	+	+
VI	0	+
VII	+	+
VIII	0	0
IX	+	+
X	0	+
XI	+	+
XII	+	+
XIII	+	+



Tabelle II.

Exp.-Nr.	Entwicklungsdauer des Tr. gambiense in der	
	Gl. palpalis	Gl. morsitans
I	26—30 Tage	41—44 Tage
II	31—35 „	36—40 „
III	—	—
IV	—	40—47 Tage
V	41—43 Tage	36—40 „
VI	—	36—40 „
VII	26—30 Tage	41—50 „
VIII	—	—
IX	22—25 Tage	31—35 Tage
X	—	36—39 „
XI	31—35 Tage	32—35 „
XII	22—25 „	41—46 „
XIII	23—25 „	41—43 „
Durchschnitt:	28—31 Tage	37—42 Tage

Von 881 (Anfangszahl) Gl. palp. wurden nur 8 infektiös. Außerdem fanden sich Entwicklungsformen in 15 Fliegen, die von dem 12. Versuchstag an spontan eingingen oder am Ende der Versuche getötet wurden. Die Zeit der Entwicklung der Trypanosomen in den infektiösen Glossinen nahm durchschnittlich 28 bis 31 Tage in Anspruch. In Gegenden dagegen, deren Klima die Entwicklung des Trypanosoma gambiense begünstigt, also an Schlafkrankheitsherden, pflegten nach unserer Erfahrung 2·5 bis 6 Prozent von den Glossinen, die an schlafkranken Affen gefüttert waren, infektiös zu werden, während die Entwicklung der Parasiten in den Fliegen 20 bis 25 Tage dauerte.

Von 881 Gl. mors. wurden 14 infektiös. Außerdem fanden sich Entwicklungsformen in 40 Fliegen, die von dem 12. Versuchstag an spontan eingingen oder am Ende der Versuche getötet wurden. Die Zeit der Entwicklung der Trypanosomen in den infektiösen Glossinen nahm durchschnittlich 37 bis 42 Tage in Anspruch. Als Grund für die kleinere Zahl der Infektionen bei der Gl. palpalis dürfen wir nur zu einem Teil ihre geringere Lebensfähigkeit ansehen. Nach dem 18. Versuchstag waren nämlich von beiden Fliegenspezies noch ungefähr gleichviel Exemplare am Leben, und nach dem 30. Tage übertraf die Mortalität der Gl. palpalis die der Gl. morsitans erst um 15 Prozent. Von Interesse scheint, daß die Entwicklungszeit des Tr. gambiense in der Gl. morsitans durchschnittlich 10 Tage länger dauerte als in der Gl. palpalis.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß der Konnex der Schlafkrankheit mit der Gl. palpalis nicht durch die besondere Spezifität dieser Glossinenart bedingt ist, sondern durch die klimatischen Verhältnisse der Seengebiete, welche der Entwicklung des Tr. gambiense besonders günstig sind. Ferner ersehen wir, daß die Gl. morsitans das Tr. gambiense auch an Plätzen — z. B. in der Steppe — weiterzutragen vermag, die wir bisher als geschützt vor der Seuche ansahen. Nach wie vor werden wir also bemüht sein, schlafkranke Eingeborene von Tsetsegebieten im Innern Afrikas fern zu halten.

Beiläufig bemerkt, es ist bekannt, daß trotz geeigneter äußerer Bedingungen die Seuche sehr häufig nicht weiterschreitet. In diesen Fällen haben anscheinend die Trypanosomen die Fähigkeit zur Entwicklung in den Glossinen verloren. Die Gründe hierfür sind noch nicht klar. [illegible]t-sächlich aber finden wir bei unseren Experimenten dann und wan[illegible]-panosomenstämme, an denen es nicht oder nur mit großer Mühe gelingt, Glossinen zu infizieren.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Königsberg.]
(Direktor: Prof. Dr. Kisskalt.)

Untersuchungen über die feinsten Luftstäubchen.

Von

G. Wolodarski.

Im Jahre 1890 hat Aitken eine Methode angegeben, mit deren Hilfe es gelingt, die kleinsten unsichtbaren oder als Sonnenstäubchen eben sichtbaren Partikelchen in der Luft quantitativ zu bestimmen. Sie beruht auf der von ihm[1] festgestellten Eigenschaft des Wasserdampfes, nur bei Anwesenheit von festen Stäubchen sich um die letzteren zu kondensieren. Durch künstliche Übersättigung einer in einem Behälter eingeschlossenen Luft mit Wasserdampf läßt er den letzteren in Gestalt einzelner Tröpfchen ausfallen; aus der Zahl der Tröpfchen ist die Zahl der sich in der Luft befindenden Stäubchen abzulesen. Mit einem auf diesem Prinzip beruhenden Apparat hatte er eine Reihe von Körpern auf ihre Fähigkeit, Kondensationskerne zu liefern, untersucht. So fand er, daß schon durch bloße Hitzewirkung allein viele Substanzen (z. B. Eisen, Glas, Steinkohle) kleine Staubpartikelchen abgeben; schon mit einem $^1/_{2000}$ ^{gran} wiegenden Stück Eisendraht konnte er Nebelwirkung hervorrufen; das Fehlen einer deutlichen Gewichtsabnahme des Eisenstückchens ließ ihn auf die außerordentliche, vielleicht molekulare Kleinheit der Teilchen schließen; Schwefel bildete bei seiner Verbrennung einen ganz besonders dichten Nebel. Der Zusatz von Ammoniak zu Schwefel, wie er auch in der Natur bei Verbrennung von Kohle gegeben ist, vermehrte sehr die Nebelbildung.

[1] *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh.* 1880/82. Bd. XI.



In einer weiteren Arbeit[1] folgt eine Beschreibung neuer Abänderungen am Apparat, der tragbar gemacht und auch für nicht Vorgebildete zum Gebrauch geeignet wurde. Mit diesem Apparat stellte er zunächst Zählungen außerhalb der Stadt Falkirk an. Hier fand er die Luft durch die in der Umgebung gelegenen menschlichen Ansiedlungen je nach der Windrichtung mehr oder weniger verunreinigt (11000 bis 140000 Kondensationskerne pro Kubikzentimeter). Proben an der Seeküste von Ayrshire gaben zu hohe Resultate wegen der in der Luft enthaltenen Salzteilchen. Messungen in Edinburg ergaben zwischen 75000 und 250000 Teilchen, in Glasgow 170000 bis 466000. Messungen in geschlossenen Räumen zeigten ihm, daß die Verunreinigung durch offene Gasflammen sehr bedeutend ist, vor allem, wenn Ventilatoren fehlen. Dabei konnte er die natürliche Ventilation verfolgen, indem am Fenster, wohin die verunreinigte Luft von nahe der Decke gezogen wird, mehr Staubteilchen nachzuweisen waren, als am Ofen, zu dem die frische Luft des Fensters gelangte. Es folgen noch einige Bemerkungen über die Staubentwicklung beim Zigarettenrauch (4000000000 Teilchen mit jedem Ausstoß). Es wird ferner[2] über Messungen in Hieres (franz. Riviera), La Plage, Cannes, Mentone, Bellagio, Baveno, Simplonpaß, Rigi, Culm, Luzern und auf dem Eifelturm berichtet; Versuche, eine Regelmäßigkeit der Anordnung der Staubteilchen je nach der Höhe über der Stadt festzustellen, blieben resultatlos.

In einer weiteren Arbeit[3] macht Aitken auf den Unterschied zwischen Stadt- und Landnebel aufmerksam. Der bei der Verbrennung von Kohle in die Luft der Stadt gelangende Schwefel hat eine große Affinität zum Wasserdampf, der sich rasch an ihm kondensiert und ihn begierig auch in den kleinsten Teilchen festhält, so daß die beim Landnebel stattfindende Umwandlung von vielen kleinen in wenige große Tropfen, die sich abregnen, hier nicht vor sich gehen kann. Endlich folgen Versuche mit Verbrennung von Alkohol, Petroleumlampen, Kerzen Streichhölzchen, die mehr oder weniger Vermehrung der Kondensationskerne ergaben.

Über Untersuchungen in Deutschland hat als erster Emmerich[4] berichtet, und zwar beziehen sich seine Zählungen auf München und bayrisches Alpenland. Einige der von ihm erhaltenen Zahlen seien hier angeführt: München 50000 bis 200000, Joseftal bei Schliersee 1080, Tegernsee bis 6500, Brecherspitze (1687 m Meereshöhe) 650, Hirschberg-

[1] *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh.* Nov. 1888 bis Juli 1889. Bd. XVI. S. 135.

[2] A. a. O. Nov. 1889 bis Juli 1890. Bd. XVII. S. 193.

[3] A. a. O. Nov. 1891 bis Juli 1892. Bd. XIX.

[4] Zit. nach Gemünd, *Vierteljahrschrift f. öffentl. Gesundheitspflege.* 1908. Bd. XL.

gipfel 830. Weiter hat Gemünd in verschiedenen Städten Zählungen vorgenommen. Auf seine Resultate wird unten noch mehrmals eingegangen werden.

Das Prinzip des Aitkenschen Apparates beruht bekanntlich darauf, daß bestimmte Mengen der Luft in eine Kammer gesogen werden, die mit filtrierter Luft gefüllt ist. An einer Wand befindet sich feuchtes Filtrierpapier; dadurch ist die Luft mit Wasserdampf gesättigt. Zieht man an einem Pumpengriff, so wird die Luft vom Volumen 1·0 auf 1.4 ausgedehnt, dadurch abgekühlt und somit mit Wasserdampf übersättigt. Der Wasserdampf schlägt sich auf den Kondensationskernen (K.-K.) nieder; sie fallen als Tröpfchen aus, die mittels Lupe gezählt werden. Genaue Angaben über die Ausführung der Untersuchung sind mehrfach publiziert (Gemünd, Emmerich und Trillich). Ich habe ihnen nichts hinzuzufügen.

Meine Untersuchungen[1] gingen zunächst darauf hinaus, die Zahl der zu verschiedenen Tageszeiten und an verschiedenen Wochentagen in der Luft befindlichen K.-K. zu bestimmen. Die Untersuchungen sind im Hofe des Hygienischen Instituts ausgeführt worden. Dieses liegt am nördlichen Ende der dicht bebauten Innenstadt; nördlich und nordwestlich davon liegen nur wenig bebaute Stadtteile.

Die Resultate gebe ich in folgenden Zahlen wieder:

					K.-K.	
23. XI. 12.	Sonnabend,	8	Uhr	vorm.	40 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	46 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	40 000	,, ,,
25. XI. 12.	Montag,	8	Uhr	vorm.	34 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	57 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	44 000	,, ,,
27. XI. 12.	Mittwoch,	8	Uhr	vorm.	55 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	67 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	60 000	,, ,,
1. III. 13.	Sonnabend,	8	Uhr	vorm.	55 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	60 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	60 000	,, ,,
2. III. 13.	Sonntag,	8	Uhr	vorm.	50 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	60 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	65 000	,, ,,
3. III. 13.	Montag,	8	Uhr	vorm.	50 000	pro ccm.
,,	,,	12	,,	,,	60 000	,, ,,
,,	,,	5	,,	nachm.	65 000	,, ,,

[1] Für die freundliche Anregung zu dieser Arbeit sei Hrn. Prof. Kisskalt bestens gedankt.



Alle Zählungen sind bei derselben Windrichtung ausgeführt, und es ist zu ersehen, daß die kleinsten Zahlen den frühen Morgenstunden zukommen; gegen Mittag erreichen sie ihr Maximum, um in den Nachmittagstunden wieder abzunehmen. Was die verschiedenen Wochentage anbetrifft, so sind die kleinsten Werte an den frühen Morgenstunden Montags festzustellen; der Sonntag dagegen zeigt keine Abnahme der Zahl der K.-K. Aus meinen Befunden lassen sich keine bestimmten Schlüsse ziehen, ob am Sonntag oder Montag eine Abnahme der K.-K. in der Luft stattfindet.

Bekanntlich hat Renk[1] gefunden, daß die Wochentage hinsichtlich Verrußung der Luft gleich sind, und daraus geschlossen, daß die Fabriken als Rußquelle eine untergeordnete Rolle spielen, und die Hauptursache der Verrußung der Stadtluft in den Beheizungsanlagen der Wohnungen liegt.

Orsi[2] dagegen konnte konstatieren, daß am Montag am wenigsten Ruß vorhanden ist, und erklärt das mit einer Selbstreinigung der Luft am Sonntag.

Schon Aitken konnte während seiner Zählungen den gewaltigen Unterschied zwischen Stadt- und Landluft in bezug auf die Zahl der in ihr befindlichen K.-K. feststellen.

Während er z. B. für Paris 160000 bis 210000, in London sogar bis 400000 K.-K. pro Kubikzentimeter zählte, waren auf dem Rigi nur 210 bis 260 K.-K. zu konstatieren. Auch die Zählungen von Emmerich in München (50000 bis 200000), seiner Umgebung und dem bayrischen Vorlande (650 bis 6500) haben die Beobachtung bestätigt. Es muß also etwas Spezifisches, für das Wesen der Stadt Charakteristisches geben, was den gewaltigen Unterschied zwischen Stadt und Land in bezug auf die Zahl der K.-K. ausmacht. Gemünd[3] hat später darauf hingewiesen, daß auch im Gebiete der Stadt selbst die Kondensation auslösenden Partikelchen nicht gleichmäßig verteilt sind; während er die größten Zahlen (60000 bis 100000) im Zentrum von Wiesbaden und Hamburg feststellte, kommen den peripheren Teilen dieser Städte viel geringere Zahlen (20000 bis 50000) zu.

Ich selbst führte Zählungen in verschiedenen Teilen Königsbergs aus, indem ich von Norden nach dem Süden ging, und habe folgende Resultate erhalten:

---

[1] *Arbeiten aus dem Kgl. hygienischen Institut zu Dresden.* 1907. Bd. II. Hft. 1.

[2] *Archiv f. Hygiene.* 1909. Bd. LXVIII. S. 10.

[3] *Deutsche Vierteljahrschrift f. öffentliche Gesundheitspflege.* 1908. Bd. XL. S. 407.

I. Windrichtung — Südost.

Am Wasserwerk (Nordwesten außerhalb der Stadt) .	25000
Steindammer Tor (nordwestliche Peripherie der Stadt)	30000—33000
Hygienisches Institut	52000—56000
Steindammer Kirche (Zentrum)	80000
Von hier weiter südwärts:	
Börse	35000
Brandenburger Tor	8000
10 Minuten südwärts (außerhalb der Stadt)	3000

II. Windrichtung — Süd.

Am Wasserwerk	25000
Hygienisches Institut	52000—55000
Münzplatz (Zentrum)	60000—80000
Friedländer Tor (südliche Peripherie der Stadt) . .	2500
Schlachthof (Süden außerhalb der Stadt)	12000

Auch ich habe also die größten Werte immer im Zentrum der Stadt erhalten, kleinere Zahlen kamen bei in dieser Zeit hier herrschendem Südwind der nördlichen Peripherie zu; die kleinsten dem Süden und Südwesten.

Das Zentrum, als Kern der Stadt, hat die größte Zahl der für die Stadtluft charakteristischen Teilchen. Von da aus vom hier damals herrschenden Süd- und Südostwind mitgenommen, werden sie nach der nördlichen und nordwestlichen Peripherie der Stadt und in dieser Richtung auch weit ins Freie hinausgeweht: der Nord und Nordwest erhält aus dem im Windstrich gelegenen Zentrum große Mengen von Partikelchen. Aus der südlichen und südwestlichen Peripherie dagegen, die an der Eintrittsstelle des Windes liegen, wird die viele K.-K. enthaltende Stadtluft nach dem Zentrum zu fortgeweht und durch K.-K. freie Außenluft ersetzt oder mindestens mit ihr verdünnt. Die hohe Zahl am Schlachthof ist durch einige dort befindliche Fabriken verursacht.

Der aus dem letztangeführten resultierende Zusammenhang zwischen Verbrennung und Zahl der mittels des Aitkenschen Apparates gezählten Teilchen wird durch die von mir angestellten vergleichenden Untersuchungen der Luft mit dem Aitkenschen Apparat und Rubnerschen Verfahren[1] für Rußbestimmung (Filtration durch Papier) noch weiter unterstützt. Ich habe mehrmals den Zählungen nach Aitken

[1] *Hygienische Rundschau.* Bd. X. S. 261. — *Archiv für Hygiene.* 1906. Bd. LVII. S. 365.



diese Rußbestimmung mit Hilfe der Ascherschen Pumpe[1] angeschlossen. Leider erwies sich die von Ascher angegebene Rußskala für Vergleiche ungeeignet, teils wegen Verschiedenheit der Farbennuancen des geschwärzten Filters und der angegebenen Skala, teils deswegen, weil, während die Verfärbung der Skala diffus ist, auch die kleinsten Rußpartikelchen das Filter in Gestalt einzelner sehr kleiner inselförmiger Anhäufungen ungleichmäßig bedecken. Deswegen mußte ich von einer absoluten Bestimmung absehen und mich auf einen Vergleich der einzelnen Filter miteinander beschränken. Ich habe sie dem Schwärzegrade nach in eine Reihe angeordnet und mit Zahlen von 1 bis 15 entsprechend, mit dem schwärzesten anfangend, bezeichnet.

Die Resultate haben sich folgendermaßen gestaltet:

Rubner 1	Aitken		66000 pro ccm
„ 2, 3	„	65000,	65000 „ „
„ 4	„		62000 „ „
„ 5 (in einem mit Gas beleuchteten Zimmer ausgeführt)	„		340000 „ „
„ 6	„		65000 „ „
„ 7 (in einem mit Gas beleuchteten Zimmer ausgeführt)	„		260000 „ „
„ 8 (in einem mit Gas beleuchteten Zimmer ausgeführt)	„		390000 „ „
„ 9	„		62000 „ „
„ 10, 11	„	58000,	60000 „ „
„ 12	„		55000 „ „
„ 13	„		33000 „ „
„ 14	„		25000 „ „
„ 15 (bei starkem Wind) . . .	„		11000 „ „

Rubner 1 könnte man vielleicht mit vier der Ascherschen Skala vergleichen, Rubner 15 war etwas weniger wie 1 der Ascherschen Skala geschwärzt. Ein gewisses Zusammengehen der nach Rubner bestimmten Rußmengen mit dem Aitken ist daraus leicht zu ersehen. Stärker geschwärzten Filtern, die der Ausdruck stärkerer Verrußung sind, entsprechen auch größere, von Aitken angegebene Zahlen. Eine Ausnahme allerdings machen die im mit Gas beleuchteten Zimmer ausgeführten Bestimmungen. Den mit 5,7 und 8 bezeichneten, im gasbeleuchteten Zimmer gewonnenen Filtern sollten dem Schwärzegrade nach 60000 bis 65000 Aitkensche K.-K. entsprechen.

[1] *Gesundheit.* 1909. Bd. XX. — *Rauch und Staub, Zeitschrift für ihre Bekämpfung.* Düsseldorf bei Bagel 1910. Hft. 3. S. 78.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, entsprechen ihnen viel größere Zahlen (260000 bis 390000). Das läßt darauf schließen, daß Gasflammen die Untersuchungen mit dem Aitkenschen Apparat stark beeinträchtigen und zwar in dem Sinne, daß die Zahl von ihm registrierter Kerne stark vermehrt wird. Für die Praxis aber kann bei Rußbestimmungen der Stadtluft im Freien das Rubnersche Filter sicher in vielen Fällen durch den Aitkenschen Apparat ersetzt werden. Dieser hat den Vorteil, daß er absolute Zahlen gibt, so daß die Werte verschiedener Untersucher miteinander verglichen werden können, was bei der anderen Methode mangels einer guten Vergleichsskala einstweilen noch nicht möglich ist. Wie später ausgeführt werden wird, spielen die im Zimmer so sehr störenden Ionen, die durch brennende Gasflammen entstehen, im Freien höchstwahrscheinlich keine Rolle.

Eine Reihe weiterer Versuche sind von mir zwecks Feststellung des Zahlenverhältnisses der Kondensation auslösenden Teilchen in der Ein- und Ausatmungsluft vorgenommen worden.

Schon das Entstehen von Nebel beim Ausatmen in kalter Luft läßt auf Vorhandensein vieler K.-K. in der Ausatmungsluft schließen, und daher war vorauszusehen, daß von den Aitkenschen Partikelchen nur kleine Mengen im Körper zurückbleiben, und dementsprechend ein größerer Prozentsatz ausgeschieden wird.

Das Ergebnis meiner Versuche, das auch dementsprechend ausfiel, ist aus folgenden Zahlen zu ersehen:

Versuch I:

Die Einatmungsluft enthält	46 000 K.-K.
Ausatmungsluft (durch den Mund eingeatmet)	34 000 „

Versuch II:

Einatmungsluft	44 000 K.-K.
Ausatmungsluft (durch die Nase eingeatmet) .	24 000 „
„ (durch den Mund eingeatmet)	23 000 „

Daraus folgt, daß von 44000 bis 46000 pro Kubikzentimeter in der Luft enthaltenen Teilchen, entsprechend 23000 bis 34000 pro Kubikzentimeter, das heißt 63 Prozent ausgeblasen werden, und nur 37 Prozent zurückbleiben; dabei sind die Zahlen ganz unabhängig davon, ob die Einatmung durch den Mund oder durch die Nase erfolgt.

Die K.-K., welche, wie später auszuführen sein wird, den kleinen Rußteilchen entsprechen, verhalten sich also anders wie gröbere Stäub-



chen. Bezüglich der Zurückhaltung der letzteren in der Lunge sind Versuche von Lehmann, Saito und Gfrörer[1] angestellt worden und haben folgende Resultate ergeben: bei der üblichen Einatmung von Staub durch die Nase und Ausatmung durch den Mund werden nur 10 Prozent wieder ausgeatmet; die übrigen Staubmengen bleiben teils in den oberen Luftwegen, teilt in der Lunge zurück. Bei Inspiration durch den Mund werden noch kleinere Mengen ausgeblasen.

Die Verschiedenheit des Prozentgehaltes des retinierten Staubes und der im Körper zurückgehaltenen Aitkenschen K.-K. ließe sich gut dadurch erklären, daß die letzteren viel kleiner und leichter als der grobe Staub sind; infolgedessen wird der größte Teil derselben wieder ausgeatmet, nur ein kleiner Teil setzt sich auf den Schleimhäuten ab. Daß dies aber im Laufe der Zeit doch eine große Menge ist, geht aus der bekannten Schwärzung der Lunge des Stadtbewohners hervor.

Ursache und Entstehung der Kondensationkerne. Über die Art der Substanzen, welche bei dem Akte der Kondensation im Aitkenschen Apparat und also hauptsächlich auch im Freien als Gerüste für die Wassertröpfchen dienen, bestehen verschiedene Meinungen. Schon die Bezeichnung des Aitkenschen Apparates als Koniskop läßt darauf schließen, daß man früher der Meinung war, das die Hauptrolle im Vorgange der Kondensation dem Staube zukomme. Dieselbe Ansicht hat später auch Liefmann[2] vertreten. „Man muß bedenken," führt er aus, „daß eine große Stadt eine Menge feinen Staubes in sich erzeugt und, da jedes feste Stäubchen gleich gut geeignet ist, das Kondensationszentrum eines Wassertröpfchens abzugeben, scheint im Staube genug Gelegenheit zur Nebel- und Wolkenbildung gegeben zu sein." Dagegen konnte Gemünd[3] nachweisen, daß der gewöhnliche Straßenstaub seine Zählungen mit dem Aitkenschen Apparat gar nicht beeinflußte; es war ziemlich gleich, ob er auf Straßen arbeitete, wo dicke Staubwolken einherrollten, oder auf einem mit Buschwerk bepflanzten Platz.

Die von Gemünd angeführte Tatsache habe ich in einer Reihe von Versuchen nachzuprüfen gesucht. Sie bestanden darin, daß ich durch Suspension von feinen Stäubchen eine künstliche Staubwolke erzeugte und darauf eine Untersuchung der Luft mit dem Aitkenschen Apparat folgen ließ.

[1] Lehmann, Saito u. Gfrörer, Über die quantitative Absorption von Staub aus der Luft durch den Menschen. *Archiv f. Hygiene.* Bd. LXXV.

[2] *Vierteljahrsschrift f. öffentl. Gesundheitspflege.* Bd. XL. S. 300.

[3] A. a. O.



Die Versuche führe ich hier an:

Versuch I: Unter einem Abzug wird Talkpulver so dicht verstreut, daß in der Luft starke Staubwolken stehen. Die daran angeschlossene Zählung fällt der vorher ausgeführten gleich aus.

Versuch II: Aspergillussporen wurden unter einer Exsikkatorglocke in die Luft geblasen, so daß eine dichte Wolke entstand; die K.-K. vermehrten sich von 46 000 auf 47 000. Eine so geringe Zunahme fällt innerhalb der Fehlergrenzen.

Versuch III: Ebenso. — Vor und nach dem Einblasen 35 000 K.-K.

Das ziemlich feine Talkpulver und die noch feineren Aspergillussporen üben also keinen Einfluß auf die Zahl der in der Luft befindlichen Kondensationskerne aus, und es ist daher nicht wahrscheinlich, daß der viel gröbere Straßenstaub diese Fähigkeit aufzuweisen vermochte. Auch die wiederholt von mir beobachtete Abnahme der Zahl der K.-K. bei stürmischem Wetter scheint mir dafür zu sprechen, daß es nicht der Straßenstaub ist, der die Kondensation im Aitkenschen Apparat bedingt. Die durch den starken Wind hervorgerufene Aufwirbelung des Staubes würde eher zu einer Zunahme der Zahl führen; jedenfalls wäre eine Abnahme ausgeschlossen.

Der Aitkensche Apparat zählt also nicht den gewöhnlichen Straßenstaub. Es ist auch von vornherein nicht sehr wahrscheinlich, daß in 1 ^{ccm} freier Luft Zehn- bis Hunderttausende von gröberen Stäubchen sich befinden; schon Größe und Gewicht machen sie ungeeignet, längere Zeit in der Luft schwebend zu verweilen. Die Konstanz der mit dem Aitkenschen Apparat erhaltenen Zahlen, die äußerst gleichmäßige Mischung und Verteilung der von ihm registrierbaren Teilchen läßt also auf viel kleinere und feinere Gebilde als der Straßenstaub schließen.

Aitken fiel, wie vorher erwähnt, eine starke Beeinflußbarkeit der Kondensation in seinem Apparat durch Tabakrauch auf. Ich konnte diese Feststellung bestätigen, indem ich in Zimmern, in denen kurz vorher geraucht wurde, ungeheuer große Werte für die mittels des Apparates gezählten Kerne konstatieren konnte; es sind wohl dabei die kleinen aus teerähnlichen Produkten gebildeten Tröpfchen, die im wesentlichen die Zunahme ausmachen. Daß auch die von einer Stearinkerze gelieferten Verbrennungsprodukte die Kondensation in demselben Sinne, wie der Tabakrauch, beeinflussen, habe ich auf folgende Weise feststellen können: Ich habe in einem Zimmer, dessen Luft 70000 K.-K. pro Kubikzentimeter enthielt, eine Stearinkerze längere Zeit brennen lassen; die darauf angeschlossenen Untersuchungen haben eine Vermehrung der Zahl auf 200000 bis 250000 K.-K. pro Kubikzentimeter ergeben. Die starke Zunahme läßt sich auf die von Rubner[1]

---

[1] *Hygienische Rundschau.* 1900. Bd. X. S. 261.



festgestellte reichliche Rußbildung bei Verbrennung von Stearinkerzen zurückzuführen; auch die in der Umgegend von Kerzenflammen entstehenden Ionen tragen wohl zu der Vermehrung bei.

Zu der Gruppe der Substanzen, die die Fähigkeit besitzen, die Kondensation im Aitken zu beeinträchtigen, gehören noch die kleinen in der Luft schwebenden Salzpartikelchen. Hält man einen in Salzsäure getauchten Glasstab über eine Schale mit Ammoniak, so ruft der entstehende „Salmiaknebel" im Apparat eine starke Kondensation hervor. Die Zahl der niederfallenden Tröpfchen ist so groß, daß sie auch bei Anwendung der stärksten Verdünnung nicht gezählt werden können. Das gilt auch für die beim Zusammentreten von Ammoniak und schwefliger Säure gebildeten Salzpartikelchen.

Von diesen Resultaten ausgehend versuchte ich festzustellen, ob einerseits in der Luft genügend freie Kohlensäure vorhanden ist, um mit verdampftem Ammoniak ein Salz zu bilden und so eine Vermehrung der Zahl der K.-K. zu veranlassen, andererseits, ob das normale Ammoniak der Luft beim Zusammentreten mit verdampfter Salzsäure eine Vermehrung hervorrufen kann. Zu diesem Zwecke habe ich in einem Zimmer eine Schale mit Salzsäure, in einem zweiten eine mit Ammoniak aufgestellt. Mehrere in gewissen Zeitabständen vorgenommene Zählungen, auch solche über den Schalen, haben in beiden Zimmern keine Vermehrung der Zahl der Kondensation auslösenden Teilchen ergeben. Es ist aus diesen Versuchen, übereinstimmend mit den modernen physikalisch-chemischen Anschauungen zu schließen, daß das in der normalen Luft enthaltene Ammoniumkarbonat dissoziert und nicht in Stäubchenform schwebend vorhanden ist.

Bei allen im Zimmer ausgeführten Versuchen fällt auf, daß die Resultate der Zählungen durch im Zimmer brennende Gasflammen sehr beeinträchtigt werden. Es genügt schon das Anstecken einer einzigen Gaslampe, um die Zahl der in der Zimmerluft befindlichen K.-K. um das fünf- ja zehnfache zu vergrößern. Folgende Untersuchung mag diese Verhältnisse demonstrieren: in einem Zimmer, dessen Luft 58000 K.-K. pro Kubikzentimeter enthält, wird eine Gaslampe angesteckt. Die in 5 Minuten vorgenommene Zählung ergibt 190000, die in 10 Minuten folgende 240000, in 20 Minuten 355000 und die letzte in $^1/_2$ Stunde nach der ersten vorgenommenen Zählung ergibt 405000 K.-K. pro Kubikzentimeter. Andererseits beträgt die Zahl der in der Zimmerluft befindlichen K.-K. 10 Minuten nach dem Auslöschen der Flamme 135000, in 20 Minuten sinkt die Zahl auf die vor dem Anstecken der Flamme im Zimmer vorhandene. Der Umstand, daß wir bei Verbrennung von Gas mit Verbreitung so vieler korpuskulären Verbrennungsprodukte in der Luft kaum zu rechnen



haben, ließ vermuten, daß wir es wohl mit den Gasflammen entstammenden schweren Ionen zu tun haben; ihre verhältnismäßig lange Lebensdauer (nach Giese [1] bis 10 Minuten) erlaubt ihnen die Kammer des Aitkenschen Apparates zu erreichen und am Akte der Kondensation teilzunehmen.

Es fragt sich nun, ob die in der Stadtluft vorhandenen K.-K. überwiegend aus Ionen bestehen, oder ob es in der Mehrzahl Rußpartikelchen sind, die in unsere Atmungsorgane gelangen.

Den Beweis dafür, daß wir im gegebenen Falle in der Tat mit Gasionen zu tun haben, mag folgender Versuch erbringen: eine Flasche wird mit Zimmerluft, in der eine Gasflamme brannte, und die nach Aitken 395000 K.-K. pro Kubikzentimeter enthält, gefüllt und fest mit einem Pfropfen verschlossen. Eine in $^1/_2$ Stunde vorgenommene Zählung ergibt 110000 K.-K. pro Kubikzentimeter. Die so auffallend große Abnahme der K.-K. kann nur so erklärt werden, daß die in die Flasche eingeschlossenen Gasionen ihre Ladung verloren haben und infolgedessen im Aitkenschen Apparate nicht mehr als Gerüst für die Wassertröpfchen dienen können. Damit soll nicht gesagt werden, daß durch die Verbrennung von Gas überhaupt kein Ruß sich bildet; im Gegenteil ist letztere Tatsache schon früher von Rubner [2] im positiven Sinne beantworden; jedoch treten, wie mau sieht, diese Rußteilchen an Zahl außerordentlich hinter die der Ionen zurück. Die Richtigkeit obiger Annahme wird durch einen daneben angestellten Kontrollversuch bewiesen. Genau so, wie im ersten Falle, wird eine Flasche mit 100000 K.-K. pro Kubikzentimeter enthaltender Außenluft gefüllt. Die in 1 Stunde vorgenommene Zählung ergibt keine Abnahme der Zahl der K.-K. Erst nach 24 Stunden ist die Zahl auf 90000 gesunken; diese geringe und langsam vor sich gehende Abnahme ist wohl auf eine Sedimentierung der Teilchen in der Flasche zurückzuführen.

Immerhin spielen die Flammenionen unter Umständen eine sehr beträchtliche Rolle, und es fragt sich, ob auch andere Ionen bei der Bildung der K.-K. in der Stadtluft beteiligt sind.

Es sind also die Gasionen, die die bei Gasbeleuchtung ausgeführten Zählungen mit dem Aitkenschen Apparat so sehr beeinträchtigen. Daß auch andere Ionen die Fähigkeit besitzen, die Kondensation von Wasserdampf zu beeinflussen, zeigte R. v. Helmholtz [3]; er konnte nachweisen, daß eine elektrische Entladung auf einen Dampfstrahl von hohem Druck einen Einfluß ausübt und zwar in dem Sinne, daß die Elektrisierung den

[1] Zitiert in Mache u. v. Schweidler, *Die atmosphärische Elektrizität.* Braunschweig 1909.

[2] *Hygienische Rundschau.* Bd. X. S. 261.

[3] Zitiert in Thomson, *Elektrizitäts-Durchgang in Gasen.* Leipzig 1906.



Dampf zu einzelnen Wassertröpfchen kondensiert. Die Kondensation auslösende Wirkung der durch Röntgenluft bedingten Ionen hat besonders Wilson studiert. Die Methode ist folgende: ein oben verschlossener Zylinder ist zum größten Teil mit Wasser gefüllt; im obersten Teil befindet sich Luft, die selbstverständlich mit Wasserdampf gesättigt ist und in die man einen hellen Lichtkegel fallen läßt. Man läßt nun unten einen Teil des Wassers schnell auslaufen; hierdurch entsteht eine Ausdehnung der Luft, infolgedessen Abkühlung und Übersättigung mit Wasserdampf (das Prinzip ist also das gleiche wie beim Aitkenschen Apparat, mit dem Unterschiede, daß die Luftverdünnung in beliebigen Grenzen, am besten von 1·0 auf 1·25 bis 1.38, variiert werden kann). Sofort sieht man einzelne Tröpfchen ausfallen, läßt man aber Röntgenstrahlen durch das Gefäß fallen und verdünnt gleichzeitig, so entsteht infolge der äußerst zahlreich sich bildenden Ionen ein sehr dichter, aus äußerst kleinen Tröpfchen bestehender Nebel. Diese Versuche sind mit demselben Erfolge von mir im physikalischen Institut wiederholt worden.[1]

Es fragt sich nun, ob diese Ionen auch im Aitken mitgezählt werden. Von vornherein ist dies nicht sehr wahrscheinlich, denn sie haben nur eine sehr kurze Lebensdauer: fast nur während der Zeit, wo der Röntgenapparat funktioniert, sind sie vorhanden; stellt man ihn ab, so sind schon 3 Sekunden später die Ionen nicht mehr nachweisbar. Dafür scheint noch folgender Umstand zu sprechen: bei einem gewissen Grade von Expansion werden von der so auf einen bestimmten Grad abgekühlten und mit Wasserdampf übersättigten Luft nur Teilchen von einer gewissen Größe als Kerne beim Vorgange der Kondensation benutzt. Da der Aitkensche Apparat nur einen willkürlich gewählten Grad von Expansion (von 1·0 auf 1·4) erlaubt, so kommen auch für die in seiner Kammer sich abspielende Kondensation nur Kerne von einer gewissen Größe in Betracht. Es ist möglich, daß die sehr kleinen Röntgen- und Funkenionen aus diesem Grunde keinen Einfluß auf die Kondensation im Aitkenschen Apparate ausüben. Das Ergebnis eines Versuches fiel auch dementsprechend aus.

Es wurde Röntgenluft produziert und in den Aitkenschen Apparat eingesaugt; die Zahl der K.-K., welche vor Beginn aller Versuche im Zimmer 70000 betragen hatte, war jetzt 71000; diese Zunahme fällt innerhalb der Fehlergrenzen und ist überhaupt minimal gegenüber der Zunahme im Wilsonschen Apparat.

[1] Hrn. Privatdozent Dr. Hoffmann sei auch an dieser Stelle für sein freundliches Entgegenkommen gedankt.



Andere Ionen werden durch elektrische Funken erzeugt. Um zu untersuchen, ob sie im Aitken mitgezählt werden, wurde mit einem Induktionsapparat ein langer Funke erzeugt, und die Luft von demselben in den Aitken gesaugt; die Zahl betrug jetzt 85000. Es wird also ein kleiner Teil dieser Ionen nach Aitken mit bestimmt. Die meisten Ionen sind aber entweder zu klein oder sie haben eine zu kurze Lebensdauer, so daß sie ihre Ladung verlieren, ohne die Kammer des Aitkenschen Apparates erreicht zu haben; nur die, wie erwähnt, viel größeren und trägeren Ionen, welche beim Verbrennen von Leuchtgas entstehen, üben auf die Kondensation einen wesentlichen Einfluß aus. Daß sie es aber sind, die den hohen Gehalt der Stadtluft an K.-K. hervorrufen, erscheint kaum denkbar. Sie spielen dabei sicher eine untergeordnete Rolle: ihre Zahl ist viel zu gering und steht hinter der der Rußteilchen stark zurück. (So gibt z. B. v. Schweidler[1] rund 1000 Ionen jedes Vorzeichens pro Kubikzentimeter an.)

Zwar entstehen auch bei der Verbrennung in unseren Öfen sehr zahlreiche Ionen, ähnlich wie bei der Verbrennung des Leuchtgases im Bunsenbrenner, aber es scheint, daß sie sofort an die kleineren Rußteilchen gebunden werden, ohne auf den Vorgang der Kondensation einen wesentlichen Einfluß auszuüben. Ebenso kommen die neuerdings von Lenard und Ramsauer[2] beschriebenen feinsten K.-K. der Luft, die nicht einmal durch Wattefiltration, sondern nur durch Ausfrieren der Luft bei —78° entfernt werden, für die Bestimmung mit dem Aitken nicht in Betracht, da ja hier, vermutlich infolge der gewählten Verdünnung, aus der filtrierten Luft keine Tröpfchen ausfallen.

Wir sind also zu dem Resultat gekommen, daß im Freien die Kondensation im wesentlichen durch die in der Luft suspendierten Rußteilchen bedingt wird: die feinen Rußanreicherungen sind also für die atmosphärischen Veränderungen maßgebend. Je größer die Stadt ist, je mehr in ihr Kohle jährlich verbrannt wird, desto größer ist die Zahl der in der Luft schwebenden Rußteilchen, und desto öfter im Jahre müssen die Nebeltage sein.

Daraus erwächst die Frage: Könnte man nicht durch den vorgeschlagenen Ersatz der Kohlenheizung durch Gasheizung die Rußplage und mit ihr auch die Nebelplage der Städte beseitigen?

Ohne weitere Auseinandersetzungen ist klar, daß das Einführen der Gasheizung die Ruß- und Rauchfrage vollkommen löst.

[1] H. Mache und E. v. Schweidler, *Die atmosphärische Elektrizität.* Braunschweig 1909. S. 89.

[2] *Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften.* Jahrg. 1911. 16. Abhandlung.



Anders die Nebelplage. Bezüglich dieser ist Gemünd[1] der Meinung: „Es scheint, daß auch bei der denkbar vollkommensten Gasfeuerung eine Unmenge von Partikelchen in die Luft überführt wird, die, wenn sie auch vielleicht mikroskopisch klein sind, doch als Kondensationskerne für Wasserdampf dienen können.“ In der Tatsache, daß die Gasfeuerung, die Nebelplage nicht beseitigen wird, kann man ihm recht geben, nicht aber in dem, was er für die Ursache ansieht; er glaubt, daß es feinst verteilte Kohlenpartikelchen sind, die der Flamme des Bunsenbrenners entströmen und die K.-K. bilden. Nach unserer Annahme dagegen handelt es sich nicht um solche, sondern um Ionen; denn einerseits wird das Rubnersche Filter durch Luft, welche durch einen Bunsenbrenner sehr viel K.-K. enthält, nicht entsprechend mehr geschwärzt, ferner spricht der Versuch mit der schnelleren Abnahme der K.-K. in der Flasche dagegen.

Es fragt sich nun, ob nach dieser Anschauung eine aus flammenloser Verbrennung herstammende Abluft, die sehr viele Flammenionen als K.-K. enthält, imstande sein wird, in den Städten Nebel zu erzeugen, obwohl die Ionen nur eine kurze Lebensdauer (rund 10 Minuten) haben.

Unserer Ansicht nach ist dies wohl denkbar. Man kann sich sehr gut vorstellen, daß bei Gasheizung die viele K.-K. enthaltende Luft dem Schornstein entströmt und sich so schnell mit einer Wasserdampf- übersättigten Luft vermischt, daß jedes der Ionen zum Nebeltröpfchen wird und auch bleibt. Je mehr K.-K. in der Luft vorhanden sind, desto dichter und feiner wird der Nebel, während, wenn es sich um wenige handelt, die Tröpfchen um so größer werden und bald niederfallen. — Neuere Angaben über einen Zusammenhang zwischen Zunahme der Gasheizungen und Abnahme der Nebeltage in London sind zu wenig kritisch, als daß man daraus irgendwelche Schlußfolgerungen ziehen könnte.

Zusammenfassung.

I. Die Zahl der K.-K. in der Königsberger Stadtluft ist geringer als die in London und etwa ebensogroß, wie die in den deutschen Städten, zwischen denen sehr große Unterschiede nicht existieren; sie ist am höchsten in der inneren Stadt.

II. Die Zahl der K.-K. der Luft im Freien geht parallel der Schwärzung des Rubnerschen Filters.

[1] A. a. O. S. 427.



III. Der größere Teil der eingeatmeten Rußpartikelchen wird wieder ausgeatmet.

IV. Schimmelpilze und Staub haben keinen Einfluß auf die Zahl der K.-K., die mit dem Aitkenschen Apparat gezählt werden. Von den Ionen kommen nur die aus Flammen stammenden in Betracht, diese allerdings manchmal sehr stark.

V. Die Verdünnung ist beim Aitkenschen Apparat zwar willkürlich gewählt (bei stärkerer Verdünnung würden mehr Tröpfchen ausfallen), für praktische Zwecke ist es aber die günstigste.

VI. Auch bei Ersatz der Kohlenfeuerung durch Gasfeuerung kann die Nebelplage fortbestehen.



[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Prof. Dr. Flügge.)

Prüfung der Dampfdesinfektion im Betriebe.

Von

Stabsarzt Dr. **Kunow,**
kommandiert zum Institut.

Die Zuverlässigkeit unserer Desinfektionseinrichtungen ist für die Seuchenbekämpfung von allergrößter Bedeutung. Dies gilt im besonderen für die Dampfdesinfektion, da dieselbe auch heute noch den wichtigsten Teil der Desinfektionsarbeit leistet. Zahlreiche Apparate verschiedener Systeme stehen für diesen Zweck zur Verfügung, ohne jedoch immer das Vertrauen zu rechtfertigen, welches sie, gestützt auf die wissenschaftlich erwiesene Desinfektionskraft des strömenden Wasserdampfes von 100° C genießen. Die Unzuverlässigkeit der Desinfektionswirkung beruht einmal auf Konstruktionsfehlern der Apparate, vor allem aber darauf, daß ein Dampfdesinfektionsapparat stets eine sachkundige und sachgemäße Bedienung erfordert, und daß daher infolge von Fehlern im Betriebe seine Wirkung häufig eine nur eingebildete ist.

Gegen Konstruktionsfehler bei neu aufzustellenden Dampfdesinfektionsapparaten sichert eine vor ihrer Abnahme von einem sachverständigen Ingenieur, meist unter Mitwirkung der Firma, ausgeführte Prüfung, nach deren Ausfall eine eingehende Betriebsinstruktion aufgestellt wird. Eine derartige systematische Kontrolle jedes neuen Dampfdesinfektionsapparates wird von der Heeresverwaltung streng durchgeführt. Außerdem schreibt dieselbe eine jährlich mindestens einmalige Wiederholung dieser Kontrolle vor, welche besonders im Anschluß an wesentliche Abänderungen oder an einen Wechsel des Betriebspersonals von einem hygienisch vorgebildeten Sanitätsoffizier nach bestimmten Gesichtspunkten hin vorgenommen werden soll.



Eine derartige einmalige oder auch zeitweise sich wiederholende Kontrolle erfolgt meist durch biologische Prüfung, nämlich durch Ermittelung der erfolgten Abtötung von in ihrer Dampfresistenz bekannten Krankheitskeimen, welche in die zu desinfizierenden Effekten hineingelegt werden. Die früher üblichen Milzbrandsporen werden nach dem Vorschlage von Hoffmann zweckmäßig durch aus Gartenerde gezüchtete, nicht pathogene Sporen ersetzt. Einfach und fehlerfrei ist freilich auch diese Methode nicht. Denn einmal erfordert sie sowohl zur Herstellung des Sporenmaterials — eine an sich recht diffizile Aufgabe — wie zur Ausführung der Prüfung einen Bakteriologen, gibt frühestens nach 24 Stunden ein Urteil und bedarf selbst einer steten Kontrolle, da man sich, wie Hoffmann schreibt, bei den an den Seidenfäden angetrockneten Sporen nicht auf die anfänglich festgestellte Resistenz bei späteren Prüfungen mit Sicherheit verlassen darf, sondern jedesmal verpflichtet ist, sich vor neuen Desinfektionsversuchen über die Resistenz des alten Sporenmaterials zu vergewissern. Eine genaue Anweisung über die Herstellung dieses Sporenmaterials und seine Verwendung findet sich in dem „Lehrbuch der Militärhygiene" (Bd. IV. S. 79) und in der „Deutschen militärärztlichen Zeitschrift" (1907. S. 700 und 1908. S. 211).

Immerhin hat sich das biologische Verfahren durchaus bewährt, um von der Tiefenwirkung des Dampfes — der sogenannten Eindringungsdauer — die wünschenswerte Kenntnis zu geben. Dies ist besonders bei den Apparaten wichtig, welche mit strömendem Dampf von Atmosphärendruck arbeiten, da bei ihnen das Eindringungsvermögen des Dampfes geringer ist.

Andere zur Konstruktionsprüfung eines Apparates angegebene Kontrollapparate geben nicht nur über die schließliche Desinfektionsleistung Aufschluß, sondern signalisieren auch nach außen den Zeitpunkt, wann im Inneren des Objektes eine Temperatur von 100° C erreicht ist. Hierher gehören z. B. die verschiedenen Kontaktthermometer und die thermoelektrischen Elemente.

Für die Kontrolle des Betriebes sind aber alle diese Prüfungsverfahren ungenügend, da sie immer nur die Konstruktionsfehler des Apparates ausschalten, dagegen im fortlaufenden Betriebe begangene Fehler, welche dem Personal zur Last fallen, nicht aufdecken, schon deshalb nicht, weil der Desinfektor bei einer Kontrolle, welche ihm als solche bewußt wird, sich natürlich streng an seine Betriebsinstruktion hält und Betriebsfehler vermeidet, während er nach stattgehabter Kontrolle sich vielleicht grobe Abweichungen von der Instruktion zuschulden kommen läßt.



Zweifellos hat die Ausbildung besonderer, amtlich geprüfter Desinfektoren in dieser Beziehung viel gebessert gegenüber den Zuständen, wie sie Schmidtmann für den Regierungsbezirk Oppeln im Jahre 1893 schildert. Ergaben doch seine damaligen Ermittelungen, daß durch kritiklose Beschaffung und schlechte Bedienung kostspieliger Dampfdesinfektionsapparate die bisherigen Bestrebungen in der Seuchenbekämpfung ein vollkommenes Fiasko darstellten. Daß aber auch heute noch von den Desinfektoren aus Bequemlichkeit, falscher Sparsamkeit oder auch in blindem Vertrauen auf die Wirksamkeit der Apparate Fehler im Betriebe begangen werden, kann keinem verborgen bleiben, der einen Einblick in dieser Beziehung zu gewinnen sucht.

Wie Heymann in seiner ausführlichen Arbeit über die Kontrolle der Dampfdesinfektionsapparate darlegt, bestehen derartige Fehler hauptsächlich in einer ungenügenden Unterhaltung des Feuers nach beendeter Anheizung; d. h. der Desinfektor überläßt, nachdem das außen sichtbare Thermometer 100° C erreicht hat, den Apparat sich selbst, frühstückt indessen und nimmt die Sachen nach der vorgeschriebenen Desinfektionsdauer oder — und darin liegt eine zweite Fehlerquelle —, wenn es ihm gerade so paßt, auch früher heraus. Ein weiterer, nicht selten begangener Fehler besteht in der willkürlichen Drosselung der Dampfabströmungsöffnung, um möglichst schnell die geforderte Temperatur zu erzielen. Hierdurch wird aber das Entweichen der Luft aus dem Desinfektionsraum und den zu desinfizierenden Effekten verhindert. Nach Übersteigen des für den Apparat vorgesehenen maximalen Innendruckes strömt zwar der Dampf durch die automatischen Sicherheitsvorrichtungen teilweise ab, um jedoch nach Wiederverschluß derselben von neuem bis zum zulässigen Innendruck anzusteigen; und so kann sich dieses Spiel mehrere Male wiederholen. Ferner wird der Desinfektionserfolg zweifelhaft durch die Überhitzung des Dampfes, d. h. wenn noch nach Beginn der Desinfektion die Erhitzung der zum Vorwärmen der Effekten bestimmten Heizkörper fortgesetzt wird. Endlich führt die Chargierung des Desinfektionsapparates mit zu großen und zu dicht gepackten Kollis häufig zu unvollkommener Desinfektion.

Bei so vielen möglichen Fehlerquellen muß daher nicht nur vom theoretischen, sondern gerade vom praktischen Standpunkte aus die strikte Forderung erhoben werden, daß jede Einzelleistung eines Dampfdesinfektionsapparates im Betriebe geprüft wird, ehe die Desinfektion als genügend erachtet werden kann. In Flügges Grundriß der Hygiene heißt es: „Da der Erfolg der Desinfektion in jedem Einzelfall ganz von der Sorgfalt abhängt, mit welcher der Betrieb erfolgt (gleichmäßige Feuerung, steter Dampfstrom!), ist eine regelmäßige Kontrolle jeder

Einzelleistung durchaus erforderlich.“ Gerade bei dem unbegrenzten Vertrauen, welches den Dampfdesinfektionsapparaten entgegengebracht wird, ist eine derartige Kontrolle unerläßlich, um dem Arzt bei der Seuchenbekämpfung das unbedingt notwendige Gefühl der absoluten Sicherheit zu geben, welches er der Behörde und dem Publikum gegenüber braucht, da dieselben doch für diese Desinfektionszwecke erhebliche Geldmittel aufwenden und Belästigungen ertragen müssen. Es ist auch wohl weniger auf eine fehlende Anerkennung dieser Forderung zurückzuführen, wenn man bisher auf eine regelmäßige Betriebskontrolle bei der Dampfdesinfektion im allgemeinen verzichtet hat, als vielmehr darauf, daß diese Forderung in der Ausführung erheblichen Schwierigkeiten begegnet.

Die biologische Prüfung ist für diesen Zweck viel zu umständlich. Die zur Konstruktionsprüfung verwendbaren Signalthermometer sind ebenfalls wegen ihrer Empfindlichkeit und Kostspieligkeit wenig geeignet. Außerdem geben aber alle diese Verfahren immer nur ein Urteil über die Tiefenwirkung in dem einen Kollo, in welches sie eingelegt sind. In einem größeren oder zu festen, der Instruktion nicht entsprechenden Kollo braucht die Desinfektion keineswegs in der gleichen Zeit vollendet zu sein. Auch können diese Verfahren nur mit Wissen des Personals verwendet werden und sind daher für den eigentlichen Zweck, den einer Kontrolle des Personals, in jedem Falle völlig ungeeignet.

Der einzige Apparat, welcher zur Kontrolle jeder Einzelleistung eines Dampfdesinfektionsapparates in der Praxis einen gewissen Eingang gefunden hat, ist der Sticher sche Kontrolleur. Er wird auch für die Armee empfohlen und häufiger benutzt. Derselbe wurde seinerzeit im Breslauer hygienischen Institut von Sticher ausgearbeitet und zwar für den speziellen Zweck der Verbandzeugsterilisation.

Herr Geheimrat Flügge war indes mit den Apparaten wegen verschiedener Mängel nicht rückhaltlos zufrieden und hat mich daher veranlaßt, zu versuchen, ob es nicht gelänge einen Apparat herzustellen, der für eine allgemeine Anwendung zur Kontrolle von Dampfdesinfektionsapparaten brauchbar wäre.

Um die Mängel des Stickerschen Kontrolleurs erklären zu können, muß ich näher auf denselben eingehen. Der Apparat besteht aus einem zylindrischen, an beiden Enden zugeschmolzenen Glasröhrchen, welches eine kleine Menge eines festen, chemischen Körpers enthält und zwar je nach den im Einzelfall angewandten Temperaturen entweder Phenanthren (Schmelzpunkt 98°) oder Brenzkatechin (Schmelzpunkt 104°) oder Resorzin (Schmelzpunkt 110°). Das Glasröhrchen ist, durch eine Luftschicht getrennt, von einem zweiten umgeben, welches gleichfalls an den Enden zugeschmolzen ist. Die Menge der chemischen Substanz und die Dicke



der die Gläser trennenden Luftschicht sollen nun so gewählt sein, daß bei Einwirkung der Schmelztemperatur erst eine gewisse Zeit vergeht, ehe die eingeschlossene chemische Substanz geschmolzen ist. Bei aufrechter Stellung des Apparates fließt sie dann von einem Pol zum anderen herunter, wo sie beim Zurückgehen der Temperatur wieder erstarrt. Über die Zeit, welche vergeht zwischen dem Augenblick, in welchem die Schmelztemperatur einwirkt, und dem, in welchem das Phenanthren in ganzer Menge herabgesunken ist, liegen in der Literatur verschiedene Angaben vor. Nach Sticher liegt die Zeit zwischen 15 und 25 Minuten. Hoffmann schreibt: „Die Phenanthrenröhrchen zeigen an, daß an der Stelle mindestens 15 Minuten lang die Temperatur von 100° C geherrscht hat." Heymann gibt die Zeit auf 10 Minuten an. Meine Nachprüfungen ergaben bei einem von Schmidt (Breslau) bezogenen Apparat 18 Minuten Zeitdauer bis zum Schmelzen der Phenanthrenmenge. Dagegen schmolz bei fünf von der Firma Altmann (Berlin) gelieferten Röhrchen in 15 Minuten etwa nur die Hälfte des Phenanthrens, während der Rest nach 1 Stunde noch nicht geschmolzen war. Trotzdem sollte es sich nach Angaben der Firma um reines Phenanthren handeln.

Es ist daher verständlich, daß die Heeresverwaltung vorschreibt, daß jeder Apparat vor seiner Ingebrauchnahme nach besonderer Vorschrift auf seine Schmelzdauer zu prüfen ist. Als Schmelzdauer gilt die Zeit, in welcher die gesamte Phenanthrenmenge, soweit mit bloßem Auge erkennbar, zum unteren Pol herabgesunken ist. Sie soll von dem Zeitpunkte ab, wo ein Kontrollthermometer 100° C erreicht hat, etwa 15 Minuten betragen.

Die Schmelzdauer scheint sich nach Hoffmanns Feststellungen im Laufe der Zeit nicht wesentlich zu ändern; er empfiehlt jedoch, hierauf durch von Zeit zu Zeit vorgenommene Prüfungen zu achten.

Andererseits kann es jedoch nach der Heymannschen Arbeit keinem Zweifel unterliegen, daß man mit den Sticherschen Apparaten, nachdem sie selbst erst einmal auf eine Schmelzdauer von 15 Minuten geprüft sind, eine zuverlässige Desinfektionskontrolle ausüben kann. Bei einem Vergleich der Zuverlässigkeit von Milzbrandsporen und Sticherschen Apparaten kommt Heymann sogar zu dem Urteil, daß die Sticherschen Apparate überlegen sind, da von 35 Versuchen 21 übereinstimmend positive, 9 übereinstimmend negative Resultate ergaben, während in 5 Versuchen die Schmelzmasse noch nicht völlig verflüssigt und doch schon eine Abtötung der Sporen erfolgt war.

Die Nachteile des Sticherschen Apparates liegen meiner Ansicht nach aber hauptsächlich auf praktischem Gebiete, d. h. sie setzen bei ihrer Benutzung zu viel guten Willen voraus und dürfen daher höchstens als zur Selbstkontrolle geeignet bezeichnet werden. Schon der Umstand, daß



der Apparat nur für die begrenzten Verhältnisse eines Verbandstoffsterilisators zugeschnitten ist, läßt ihn für eine allgemeine Verwendung bei der Kontrolle der Dampfdesinfektionsapparate wenig geeignet erscheinen. Die Sticherschen Kontrollapparate sollen nämlich in die größten Kolli eingelegt werden, und zwar bereits in der Wohnung des Kranken, da das Desinfektionsgut desinfektionsfertig angeliefert werden muß, um nicht durch nochmaliges Aus- und Umpacken der Sachen das Personal und den Desinfektionsraum der Anstalt einer vermeidbaren Ansteckung auszusetzen. Hierdurch ist aber bereits dem Irrtum oder gar der Willkür des die Verpackung ausführenden Desinfektors Tür und Tor geöffnet.

Selbst bei größerer Übung dürfte es schwer sein, stets diejenigen Kolli mit Sicherheit zu bestimmen, welche dem Dampfstrom den größten Widerstand beim Eindringen entgegensetzen, da ja nicht allein die Größe des Kollo, sondern vor allem auch die Durchlässigkeit der Sachen und die Gewalt, mit welcher sie zusammengeschnürt werden, dafür von Bedeutung sind. Dazu kommt noch der Umstand, daß ein aus verschiedenen Effekten zusammengeschnürtes Kollo dem Dampf beim Eindringen nicht auf allen Seiten gleichen Widerstand entgegensetzt; da es aber zur Auslösung des Kontrollmechanismus genügt, wenn der Dampf auf dem leichtesten Wege an das Phenanthren gelangt, so ist durch das Schmelzen desselben noch nicht die Garantie gegeben, daß auch alle Schichten des Kollo gleichmäßig und lange genug vom Dampf durchströmt worden sind. Außerdem sollen die Phenanthrenapparate sofort nach Ablauf der Prüfungszeit aus den Kolli herausgenommen werden oder, falls dies nicht möglich ist, sollen wenigstens die Kolli unter Beibehaltung ihrer ursprünglichen Lage mehrere Male kräftig geschüttelt bzw. auf eine feste Unterlage gestoßen werden, weil das Phenanthren in den Röhrchen zuweilen zwar vollständig schmilzt, aber infolge Haftenbleibens an der Wand des Glaskerns nicht zum unteren Pol herabfließt (Hoffmann).

Billigerweise dürfte aber bezweifelt werden, daß es bei diesem Verfahren möglich ist, die Lage des Kollo stets so zu erhalten, daß der Apparat nachher während der Desinfektion auch annähernd aufrecht steht. Bedenkt man weiterhin, daß der Desinfektor sich bei jedem Apparat genau merken muß, an welchem Polende die Schmelzmasse vor der Desinfektion saß, dann wird man zugeben müssen, daß bei so vielen Fehlerquellen von einer sicheren Kontrolle in der Praxis nicht mehr die Rede sein kann.

Ein Kontrollapparat, welcher den praktischen Verhältnissen Rechnung tragen will, muß vor allem dem Einfluß des Bedienungspersonals absolut entzogen sein und sich trotzdem den wechselnden Bedingungen anpasssen, wie sie bei der Beschickung der Dampfdesinfektionsapparate gegeben sind.



Bei der großen Verschiedenheit der einzelnen Effekten, welche zur Desinfektion angeliefert werden, muß schon aus rein wirtschaftlichen Gründen danach gestrebt werden, den Apparat immer mit annähernd gleich schwer zu desinfizierenden Kolli gleichzeitig zu beschicken, damit nicht etwa wegen eines einzelnen Kollo der Apparat 1 Stunde oder länger unter Dampf gehalten werden muß, während die anderen nur $^1/_2$ Stunde erfordert hätten.

Dies läßt sich nun leicht durch eine Anweisung an die Desinfektoren über Größe und Packung der Kolli erreichen, indem man anordnet, daß die Effekten jeder Person für sich gepackt werden müssen, und daß Kleider und Wäsche ein besonderes Kollo bilden gegenüber dem Bettenkollo (welches aber keine Matratzen enthalten darf). Ist die Chargierung des Apparats auf diese Weise ein für allemal geregelt, so haben wir es praktisch, was die Eindringungsdauer angeht, nur noch mit zwei verschiedenen Desinfektionsobjekten zu tun. Erstens mit einzelnen, auseinandergebreiteten Effekten und Kleiderkolli und zweitens mit Betten- oder Matratzenkolli. Als entsprechende Eindringungszeit kommen dann nach Heymanns Versuchen folgende in Betracht:

für Einzeleffekten, Kleiderkolli und Kinderbettenkolli (exkl. Matratze)	30 Minuten,
für Betten- (exkl. Matratze) oder Matratzenkolli	60 Minuten.

Hierbei ist der für die Abtötung der Keime in Anschlag zu bringende Zuschlag bereits eingerechnet.

Danach würde es also auch genügen, wenn der Kontrollapparat nach stattgehabter Desinfektion anzeigte, daß 30 oder 60 Minuten lang eine Temperatur von 100° geherrscht hat, je nachdem der Dampfapparat mit dem einen oder anderen Material beschickt wurde.

Ich versuchte diese Aufgabe dadurch zu lösen, daß ich kleine Maximalthermometer mit einem Material umhüllte, welches die Wärme schlecht leitet. Da bei den Sticherschen Phenanthrenröhrchen die Luftschicht zwischen den beiden Glasröhren auch als Wärmewiderstand wirken sollte, versuchte ich zunächst festzustellen, welcher Anteil ihr dabei zugeschrieben werden konnte. Es ergab sich, daß derselbe kaum eine Minute betrug, so daß also die Menge des eingebrachten Phenanthrens in ausschlaggebender Weise die Zeit für den Kontrollmechanismus bestimmt. Der Versuch, durch einen weiteren Luftmantel eine bessere Wärmeisolation zu erzielen, konnte nur dann von Erfolg sein, wenn die Luft zugleich an der freien Zirkulation und dem dadurch erleichterten Wärmeaustausch

gehindert wurde. So kam ich dazu, statt des Luftmantels einen solchen aus Filz zu verwenden, und benutzte, da sich bei den Versuchen herausstellte, daß auch die Dichtigkeit des Filzes von Einfluß war, zuletzt einen außerordentlich festen Filz. Derselbe verzögerte in einer Stärke von $1^1/_2$ cm die Wärmeübertragung auf das Thermometer gerade eine Stunde lang. Dabei war jedoch der Filzmantel von einer mit Gummistopfen verschlossenen Glasröhre umgeben, um ihn gegen das direkte Eindringen des Dampfes zu schützen. Denn sobald der Dampf infolge undichten Verschlusses in die Glasröhre und so in den Filz eindringen konnte, war natürlich die Wärmeisolation aufgehoben.

Durch entsprechende Änderung in der Dicke der Filzschicht stellte ich so zwei verschiedene Apparate her, welche die Einwirkung der Temperatur von 100° C auf das eingeschlossene Thermometer um 30 bzw. 60 Minuten verzögerten. Um nun jedoch nicht für jede Zeit einen besonderen Apparat zu benötigen, versuchte ich beide Apparate in einen zu vereinigen. Zu diesem Zwecke mußte ich das Thermometer so einrichten, daß es auch bei der stärkeren Filzschicht bereits nach 30 Minuten den Quecksilberfaden erscheinen ließ. Da die Ausdehnung des Quecksilbers jedoch um so langsamer vor sich geht, je mehr man sich dem 100° Punkt nähert, so fielen die beiden Markierungspunkte für 30 bzw. 60 Minuten sehr dicht zusammen. Um nun einen genügend weiten Raum zwischen beide Punkte zu bekommen, machte ich die umhüllende Filzschicht so dick, daß der Quecksilberfaden auch nach 60 Minuten 100° nicht mehr erreichte. Schließlich verzichtete ich gänzlich auf die Einteilung nach Wärmegraden und markierte nur den Stand des Quecksilberfadens nach 30 bzw. 60 Minuten langer Einwirkung des strömenden Wasserdampfes von 100° C, d. h. ich eichte das Thermometer nach Zeiten.

Um den Apparat für die Praxis brauchbar zu machen, mußte nun noch die Glashülle durch eine solche aus Metall ersetzt werden und diese einen Verschluß erhalten, welcher sich auch bei dauerndem Gebrauch als dampfdicht bewährte und zugleich gegen eine unberufene Öffnung geschützt war. Diese Forderung einen geeigneten Verschluß zu finden, gestaltete sich technisch außerordentlich schwierig. Ich versuchte es zunächst mit einem einfachen Schraubenverschluß mit eingelegtem Dichtungsring, welcher durch einen besonderen Schraubenschlüssel bewegt wurde. Aber obgleich ich alle möglichen Abdichtungen versuchte (die verschiedensten Gummisorten, Kautschuck, Asbest, Papier usw.), gelang es nicht einen im Gebrauch zuverlässigen Verschluß zu erzielen. Einerseits der Dampf und andererseits das Drehen der Schraube zerstörte bald das Dichtungsmaterial, so daß längere Versuchsreihen stets wieder Unstimmigkeiten aufwiesen.



Ich versuchte es daher mit einem Hebelverschluß nach Art der Flaschenverschlüsse, um die Abnutzung des Dichtungsmaterials durch das Anziehen der Schraube zu vermeiden. Aber auch dieser Verschluß bewährte sich nicht auf die Dauer. War das Dichtungsmaterial elastisch genug, um sich nach Umlegen des Hebels überall dampfdicht anzulegen, wurde es von dem Dampf bald zerstört. Nahm ich derberes Material, wie zum Beispiel Klingerit, welches die Einwirkung des Dampfes vertrug, dann war es nicht elastisch genug, um sich bei herabgedrücktem Hebel den Rändern des Deckels überall gleichmäßig dicht anzulegen.

Da ich also des Dampfes wegen an ein derbes Dichtungsmaterial gebunden war, mußte ich einen Verschluß wählen, welcher dasselbe stärker zusammenpreßte, und das konnte nur ein Schraubenverschluß sein. Um nun aber nicht die Drehung der Schraube auf den Dichtungsring wirken zu lassen, wählte ich einen Bügelverschluß nach Art der kleinen Autoklaven, indem ich den Dichtungsring zwischen den abgedrehten Flächen zweier Metallringe, welche ich mittelst Bügel und Schraube gegeneinander bewegen konnte, zusammenpreßte. Dieser Verschluß hat sich in monatelangem Gebrauch durchaus bewährt. Um einer unberufenen Öffnung des Kontrollapparats vorzubeugen, richtete ich den Kopf der Schraube so ein, daß dieselbe nur durch einen besonderen Schlüssel bewegt werden kann.

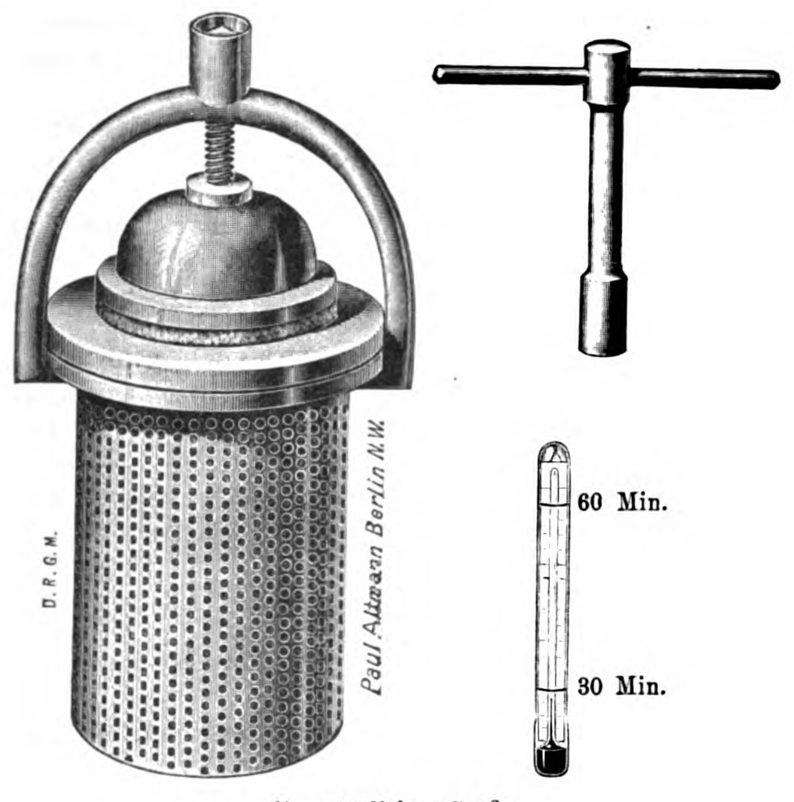
Als ich nun mit einem derartigen Apparate begann, Versuche in größeren Desinfektionskammern vorzunehmen, zeigte es sich, daß bei längerer Anheizdauer bereits die erwärmte Luft in der Desinfektionskammer einen Einfluß auf den Stand des Quecksilberfadens ausübte, und so die Endwerte je nach der Dauer der Anheizperiode schwankten. Es ergab sich daraus die Forderung, den Kontrollapparat noch einmal so zu isolieren, daß erst bei beginnender Dampfentwicklung eine Wärmeübertragung auf das eingeschlossene Thermometer stattfinden konnte. Dies wurde dadurch erreicht, daß der ganze Kontrollapparat noch mit einer 1^{cm} dicken Filzschicht umhüllt wurde, welche jedoch mit einem durchlöcherten Blechmantel umgeben war, so daß bei völliger Isolation des Kontrollapparates der sich allmählich erwärmenden Luft gegenüber dem Eindringen des Dampfes kein wesentlicher Widerstand geboten wurde.

In dieser Form hat sich der Kontrollapparat in zahlreichen Versuchen unter der Praxis angepaßten Bedingungen durchaus bewährt.

Leider war es technisch nicht möglich, den Apparat, insbesondere das thermometerartige Instrument stets ganz gleichmäßig herzustellen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, jeden Apparat zu eichen. Hierdurch ist nun aber auch die absolute Garantie gegeben, daß nur zuverlässig brauchbare Kontrollapparate in den Handel kommen.



Der Gebrauch des Kontrollapparates ist nun derart gedacht, daß die Aufsichtsstelle des Krankenhauses bzw. der Desinfektionsanstalt, welche die Beschickung des Dampfdesinfektionsapparates nach den zur Desinfektion vorliegenden Effekten veranlaßt, dem Desinfektor für jede Desinfektion einen eigenhändig verschlossenen Kontrollapparat übergibt mit der Weisung, denselben in die Desinfektionskammer mit einzuhängen und nach stattgehabter Desinfektion wieder abzuliefern. Auf diese Weise läßt sich



$^1/_2$ natürlicher Größe.

also noch beliebige Zeit hinterher feststellen, ob eine Temperatur von 100° den eingelegten Effekten entsprechend lange genug eingewirkt hat.

Die eingangs aufgestellte Forderung, jede Einzelleistung eines Dampfdesinfektionsapparates zu prüfen, bevor die Desinfektion für genügend erachtet wird, kann demnach bei Benutzung dieses Kontrollapparates erfüllt werden, und zwar unter gleichzeitiger Kontrolle des Apparates und des Bedienungspersonals. Die Erfüllung dieser Forderung steigert den Wert der Dampfdesinfektionsapparate erheblich, insbesondere auch den Vakuumformalinapparaten gegenüber, welche wegen ihres komplizierten Baues eine derartig leicht auszuführende Betriebskontrolle ausschließen.

Dieselbe müßte sich bei diesen Apparaten 1. auf den Gehalt der Formalinlösung, 2. auf die richtige Temperatur und 3. auf richtiges und dauernd gehaltenes Vakuum beziehen. Zurzeit ist also bei diesen Apparaten nur eine biologische Prüfung mit ihren eingehend geschilderten, die Verwendung im Betriebe ausschließenden Nachteilen möglich. Man muß sich eben bei diesen Apparaten, wie schon Konrich betont, in der Praxis einfach darauf verlassen, daß sie richtig funktionieren, und das Bedienungspersonal jedes einzelne Mal alle Vorschriften genau befolgt. Gerade durch die nunmehr ermöglichte, leichte Kontrollierbarkeit werden daher die einfachen Dampfdesinfektionsapparate den Vorzug vor den komplizierten Formalin-Vakuumapparaten verdienen.

Dem Kontrollapparat wird folgende Gebrauchsanweisung beigegeben:

Der Apparat ermöglicht die Kontrolle jeder Einzelleistung eines Dampfdesinfektionsapparates, und zwar erstreckt sich diese Kontrolle sowohl auf den Dampfdesinfektionsapparat wie auf das Bedienungspersonal, indem der Kontrollapparat unmittelbar nach Beendigung der Desinfektion anzeigt, ob die Temperatur von 100° C 30 bzw. 60 Minuten lang in der Desinfektionskammer geherrscht hat.

Die Zeiten umfassen Eindringungs- und Abtötungsdauer und sind den in der Praxis vorliegenden Verhältnissen genau angepaßt.

Die Zeit von 30 Minuten ist ausreichend für

1. freihängende Effekten,
2. Kolli, welche die Kleider und Wäschestücke einer Person enthalten,
3. Kolli, welche ein Kinderbettzeug enthalten, ausschließlich der Matratze,
4. eine Kinderbettmatratze.

Die Zeit von 60 Minuten ist ausreichend für

1. Kolli, welche das Bettzeug eines Erwachsenen enthalten, ausschließlich der Matratze,
2. die Matratze eines Erwachsenen.

Die Chargierung der Dampfdesinfektionsapparate hat entsprechend dieser Einteilung zu erfolgen.

Der Kontrollapparat wird von der Aufsichtsstelle aus dem Desinfektor verschlossen übergeben mit der Anweisung, ihn unter Benutzung des beiliegenden Drahthakens in der Desinfektionskammer frei aufzuhängen und nach Beendigung der Desinfektion wieder abzuliefern. Das Öffnen des Apparates zwecks Feststellung des Ergebnisses kann unmittelbar oder beliebig später erfolgen.



Die Desinfektion ist nur dann als genügend zu bezeichnen, wenn der Quecksilberfaden an dem eingeschlossenen, nach Zeiten geeichten Maximalthermometer diejenige Marke (30 bzw. 60 Minuten) erreicht hat, welche dem Umfang der der Desinfektion unterworfenen Effekten entspricht.

Vor erneuter Benutzung des Kontrollapparates ist darauf zu achten, daß der Quecksilberfaden des Maximalthermometers herunter geschlagen ist, und daß sich die Filzschichten wieder auf Zimmertemperatur abgekühlt haben, was ungefähr 2 Stunden in Anspruch nimmt. Bei dauerndem Betriebe sind daher zwei Apparate erforderlich.

Die Anfertigung der Apparate habe ich der Firma Paul Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstraße 47, übertragen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Christian, *Hygienische Rundschau.* 1907. Bd. XIV.
2. Derselbe, *Ebenda.* 1909. Bd. V.
3. Flügge, *Grundriß der Hygiene.* Leipzig 1912. S. 577.
4. Heymann, *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. L. S. 446.
5. Hoffmann, *Lehrbuch der Militärhygiene.* Berlin 1910. Bd. IV. S. 75.
6. Derselbe, *Deutsche militärärztliche Zeitschrift.* 1907. Nr. 16. S. 700.
7. Hüne, *Ebenda.* 1908. Nr. 5. S. 211.
8. Konrich, *Diese Zeitschrift.* 1912. Bd. 71. S. 298.
9. Lösener, *Deutsche militärärztliche Zeitschrift.* 1909. Nr. 7. S. 275.
10. Rubner, *Archiv f. Hygiene.* Bd. LVI.
11. Derselbe, *Hygienische Rundschau.* 1903.
12. Schmidtmann, *Deutsche Vierteljahrsschrift f. öffentliche Gesundheitspflege.* 1895. Bd. XXVII. S. 169 ff.
13. Sobernheim u. Seligmann, *Desinfektion.* 1910. S. 539.
14. Sticher, *Centralblatt f. Chirurgie.* 1899. Nr. 26 u. 49.
15. Derselbe, *Ebenda.* 1900. Nr. 25.
16. Derselbe, *Centralblatt f. Gynäkologie.* 1901. Bd. X.



[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i/Els.]
[Abteilung für Typhusbekämpfung.]
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth.)

Bakteriologischer und histologischer Sektionsbefund bei einer chronischen Typhusbazillenträgerin.[1]

Von

Dr. **Th. Messerschmidt,**
Assistent des Instituts.

Eingehende Sektionsberichte von chronischen Typhusbazillenträgern, die alle Organe des Körpers sowohl bakteriologisch wie anatomisch berücksichtigen, sind bisher in der Literatur nur spärlich vertreten. Daher kommt es auch wohl, das mit Ausnahme des Vorkommens der Typhusbazillen in der Gallenblase von nur annähernd regelmäßigen Befunden bisher nicht die Rede sein kann. Ja selbst an dieser Prädilektionsstelle, die wohl allgemein als das Reservoir angesehen wird, aus dem die Typhusbazillen sich stets aufs neue in den Darm ergießen und dadurch — bei den Stuhlbazillenträgern wenigstens — in den Fäzes erscheinen, gelang 5 Mal bei 19 untersuchten Gallenblasen der Nachweis nicht. Auf Erklärungsversuche, sowie auf die Literatur können wir hier nicht näher eingehen, da Bindseil erst vor kurzem sich mit diesen beiden Fragen beschäftigte. Wir verweisen daher auf seine Arbeit.[2]

[1] Die in Frage stehende Bazillenträgerin W. war seit dem Jahre 1909 in der gemeinsamen Pflegeanstalt Hördt. Hr. Direktor Dr. Haberkant hatte die Liebenswürdigkeit uns die Krankengeschichte zu überlassen und durch frühzeitige Nachricht uns die Sektion kurz nach dem Exitus zu ermöglichen. Auch an dieser Stelle möchten wir ihm dafür unseren Dank aussprechen.

[2] *Diese Zeitschrift.* 1913. Bd. LXXIV. S. 269.



Die zur Sektion gekommene Typhusbazillenträgerin, über die wir heute berichten, erkrankte im August 1907 an Typhus abdominalis. Sie war damals 66 Jahre alt. Sie war das dritte Glied in einer Kontaktkette von Typhuserkrankungen in ihrer Familie. Gleichzeitig herrschte in D., dem Ort der Erkrankung, eine größere Epidemie von zwölf Fällen. Die Patientin wurde gleich nach festgestellter Infektion in das Bürgerspital zu Straßburg gebracht und hier behandelt.

Sichere Angaben, ob Frau W. vor dem Typhus schon an Gallensteinen litt, ließen sich nicht mehr erbringen. Nach der klinischen Genesung im Anfang September 1907 schied sie, wie aus der folgenden Tabelle I ersichtlich ist, weiter Typhusbazillen aus und wurde daher auf die Bazillenträgerliste gesetzt. Die gleichzeitig Erkrankten in D. sind keine Dauerausscheider geworden. Fast regelmäßig wurden bei den möglichst monatlich ausgeführten Untersuchungen Typhusbazillen im Stuhl von Frau W. gefunden. Die Befunde im Urin waren im ersten Jahre positiv, später war der Urin frei von Typhusbazillen. Während des Aufenthalts in der Pflegeanstalt Hördt, in die sie als harmlos verblödete, unsaubere Bazillenträgerin mehr aus hygienisch prophylaktischen Gründen überführt war, war es nicht möglich, Urin zu bekommen, da die Patientin infolge ihrer Dementia senilis unter sich gehen ließ. Auch bei der Sektion war die Blase entleert, so daß eine bakteriologische und chemische Untersuchung des Urins leider nicht ausgeführt werden konnte. Das bakteriologische Sektionsprotokoll macht es indessen wahrscheinlich, daß das Urinbazillenträgertum wohl vorübergehend, nicht aber dauernd aufhörte. Wir kommen hierauf weiter unten zu sprechen.

Bald nach überstandenem Typhus erkrankte Frau W. an einer linksseitigen eitrig-serösen Pleuritis. Aus dem Exsudat ließen sich anfangs häufiger Typhusbazillen in großen Mengen züchten, wie aus Tabelle I ersichtlich ist. Es handelte sich hierbei also um eine der relativ nicht so seltenen Nachkrankheiten des Typhus. Die Pleuritis exsudativa blieb bestehen, es mußten häufiger Punktionen wegen der Verdrängungserscheinungen ausgeführt werden, bei denen beträchtliche Mengen eines klaren Exsudats entleert wurden. Die gelegentlich ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen dieser Exsudate ergaben niemals wieder Typhusbazillen. Das Sektionsprotokoll berichtet von erheblichen tuberkulösen Veränderungen der Lungen; wir sind daher geneigt die Pleuritis exsudativa als tuberkulöser Natur zu bezeichnen. Der histologische Befund der pleuritischen Verwachsungen dürfte hierüber Aufschluß geben.

Die Widalsche Reaktion wechselte. Sie war zu Beginn $^1/_{50}$ positiv, stieg dann einmal auf $^1/_{500}$, fiel später auf $^1/_{50}$ und $^1/_{20}$. Die Reaktion des Leichenbluts war $^1/_{20}$ schwach positiv (nach 2 Stunden bei 37°).



Tabelle I.

Protokoll der bakteriologisch-serologischen Untersuchungen.
Als typhuskrank gemeldet: 28. VIII. 1907. — Verpflegung im Bürgerspital zu Straßburg.

Jahr	Datum	Widal	Blutzüchtung	Fäzes	Urin	Bemerkungen
1907	2. VIII.	0	0	0	—	—
	3. VIII.	—	—	0	0	—
	8. VIII.	+ 1/50	0	—	—	—
	26. IX.	—	—	—	—	Pleuritischer Eiter + Ty.
	5. X.	—	—	—	—	Pleuritisches Exsudat + Ty.
	16. X.	—	—	—	—	„ „ 0.
	19. X.	—	—	—	—	„ „ + Ty.
	23. X.	—	—	+	0	—
	26. X.	—	—	0	+	—
	30. X.	—	—	0	+	Pleuritisches Exsudat 0.
	31. X.	—	—	—	—	—
	4. XI.	—	—	—	+	—
	9. XI.	—	—	—	+	—
	16. XI.	—	—	+	0	—
	21. XI.	—	—	+	+	—
	28. XI.	—	—	+	0	—
	2. XII.	—	—	0	0	—
1908	15. III.	—	—	+	0	—
	8. IV.	—	—	+	0	—
	4. VI.	—	—	+	0	—
	3. VII.	—	—	+	0	—
	3. VIII.	—	—	0	—	—
	8. VIII.	—	—	+	0	—
	13. VIII.	—	—	+	—	—
	24. VIII.	—	—	+	0	—
	10. X.	—	—	+	0	—
	26. X.	—	—	+	—	—
	24. XI.	—	—	+	0	—
	10. XII.	—	—	+	0	—
1909	5. I.	—	—	+	0	—
	16. I.	+ 1/500	0	—	—	Präzipitation + Ty.
	20. I.	—	—	+	—	—
	26. III.	—	—	+	—	—
	14. VI.	—	—	+	—	—
	15. VII.	—	—	+	—	—
	27. VIII.	—	—	0	—	—
	16. IX.	—	—	+	—	—
1910	8. II.	—	—	+	—	—
	5. III.	+ 1/50	—	—	—	—
	31. V.	—	—	+	—	—
	12. IX.	—	—	+	—	—
	20. XII.	—	—	+	—	—

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Jahr	Datum	Widal	Blut-züchtung	Fäzes	Urin	Bemerkungen
1911	6. III.	—	—	+	—	—
	29. VIII.	—	—	+	—	—
	28. X.	—	—	+	—	— Täglich mit Yoghurt (Baz. bulgaricus) gefüttert.
	7. XI.	—	—	+	—	Opson. Index 5.
	14. XII.	—	—	+	—	—
1912	13. I.	—	—	+	—	—
	27. II.	—	—	+	—	Bac. Proteus,
	1. IV.	—	—	0	—	„ „
	27. IV.	—	—	+	—	„ „
	9. X.	—	—	0	—	Pleur. Exsudat: 0.
	26. X.	—	—	0	—	— Atoxylsaure Quecksilberbehandlung.
	5. XI.	—	—	0	—	—
	11. XI.	—	—	0	—	Bac Proteus in
	29. XI.	—	—	0	—	großen Mengen.
	30. XI.	—	—	0	—	Desgl.
1913	3. II.	—	—	+	—	22. I. 25. I. I.-S. Kraus 2 × 20 ccm
	18. II.	--	—	0	—	„
	9. III.	—	—	+	—	Exitus.

1909 wurde die Präzipitation des Blutserums gegen einen durch Schütteln gewonnenen Typhusbazillen-Extrakt positiv befunden. Im Jahre 1911 wurde der von uns untersuchte opsonische Index auf fünf bestimmt. Diese Erhöhung des opsonischen Index bei Typhusbazillenträgern wurde mehrfach in der Literatur berichtet. Gaehtgens sah ihn unter 17 untersuchten Bazillenträgern 16 mal über der Norm. Wir selbst hatten des öfteren Gelegenheit bei menschlichen und tierischen chronischen Typhusbazillenträgern diese Angaben zu bestätigen. Auch sonst berichten einige englische Arbeiten ähnliches.

Aus der Krankengeschichte ist noch folgendes zu berichten:

Psychisch bot Pat. das typische Bild der senilen Demenz.

Erscheinungen von Gelbsucht, Magendarmbeschwerden, Gallen- oder Leberleiden wurden in Hördt nicht beobachtet. Der Stuhl war meist angehalten.

Die Hautfarbe war während der letzten Jahre blaß, schmutzigbräunlich, etwas an Bronzefarbe erinnernd (vgl. Sektionsprotokoll d. Nebenniere).

Bis auf die letzten Monate war Pat. in gutem Ernährungszustande und fieberfrei.

Spätere Temperatursteigerungen dürften sich durch die ausgedehnten tuberkulösen Veränderungen, über die weiter unten berichtet wird, erklären eventuell auch durch bestehenden Decubitus sacralis.

Übrigens wollen wir hier noch festellen, daß trotz des lange Zeit regelmäßig gelungenen Nachweises von Typhusbazillen in den Fäzes nach-



weisliche Infektionen von der W. nicht ausgingen. Während ihres Aufenthaltes in Hördt ist das dadurch zu erklären, daß sie mit mehreren Dauerauscheiderinnen isoliert war und von einer geschulten Pflegerin unter ständiger Kontrolle der Ärzte gehalten wurde.

Wie aus Tabelle I ersichtlich ist, war die Behandlung der Pat. mit Yoghurt, mit atoxylsaurem Quecksilber und mit dem bakteriziden Immunserum Kraus ohne dauernden Erfolg. Wir werden hierüber später eingehend berichten.

Die Sektion wurde ausgeführt von Hrn. Direktor Dr. Haberkant, der uns das Sektionsprotokoll gütigst überließ. Die bakteriologische Untersuchung wurde sofort im Anschluß an die Sektion begonnen.

Es wurde dabei folgendermaßen verfahren:

Das aus der Leiche jeweils entnommene Organ wurde in etwa apfelgroße Stücke zerlegt. Die zur bakteriologischen Untersuchung bestimmten Stücke wurden in absoluten Alkohol getaucht und dann über einer Flamme abgebrannt. Nach so erfolgter Sterilisation der Oberflächen wurde mit sterilen Instrumenten eingeschnitten und aus dem Innern des Organstückes eine gewisse Menge auf je zwei großen 20^{cm} im Durchschnitt messenden Endoplatten und einer ebensolchen Malachitgrünplatte ausgestrichen. Ein etwa haselnußgroßes Stück aus dem Innern wurde zerkleinert und in ein Galleröhrchen gebracht, der Rest der Organe wurde zur histologischen Untersuchung in 10prozentiges Formalin gelegt und aufbewahrt. Aus den einzelnen Darmabschnitten wurde nach vorherigem Abbrennen der Darmwand mit einem heißen großen Messer ein Loch gebrannt, aus diesem wurde der Darminhalt entnommen und auf je zwei Malachitgrün- und Endoplatten ausgestrichen.

Die Endoplatten wurden nach 24 Stunden bei 37° untersucht. Die Malachitgrünplatten wurden nach gleicher Zeit nach dem Verfahren von Lentz & Tietze abgeschwemmt und nach weiterer 24 stündiger Bebrütungszeit der zweiten Plattenserie untersucht. Die Galleröhrchen wurden nach 24 und nach 48 Stunden auf je eine Endoplatte verimpft.

Verdächtige Kolonien wurden zunächst makroskopisch mit der orientierenden Agglutinationsmethode untersucht. Es wurden dann von einer Kolonie Schrägagarröhrchen angelegt, die nach 24 Stunden auf die weiter unten angegebenen Nährböden geimpft wurden, um zu vergleichen, ob sie alle gleichartig sich gegen die in Frage kommenden Differentialnährböden verhalten.

Ferner wurden die erste (24 stündige) Bazillengeneration und die achte (nach achtmaligem Überimpfen nach je 24 Stunden) gegen unser Immunserum austitriert.

Den bakteriologischen Befund zeigt Tabelle II.



Tabelle II.

Bakteriologischer Befund.

Organ	Endoplatte	Malachit, dann Endo	Galleanreicherung nach 24 Std.	Galleanreicherung nach 48 Std.	Bemerkungen
Herzmuskel	0	0	0	0	—
Herzblut	0	0	0	0	—
Herzmuskelschwiele	0	0	0	0	—
Atheromatöse Aorta	0	0	0	0	—
Linke pleuritische Verwachsung	0	0	0	0	—
Pleuritischer Erguß links	0	0	0	0	—
Oberlappen rechts	0	0	0	0	—
„ links	0	0	0	0	—
Bronchialinhalt	0	0	—	—	—
Bronchialdrüsen	0	0	—	—	—
Atelektat. linke Lunge	0	0	—	—	Tuberkelbazillen +
Milz	0	—	0	0	—
Bauchfellknötchen	—	—	0	0	—
Leber, dünne Randpartien	0	0	0	0	—
„ Gegend der großen Gallenwege	+	—	+	—	—
Galle	+	—	+	—	Vgl. unten.[1]
Gallenstein 1	—	—	+	—	—
„ 2	—	—	0	0	Vgl. unten.[1]
Gallenblasenwand	—	—	+	—	„ „
Mesenterialdrüsen	0	—	0	0	—
Niere links und rechts	0	0	0	0	—
„ rechte Papille	+	—	+	—	Vgl. unten.[1]
Nebenniere links	+	—	+	—	„ „
„ rechts	0	—	0	0	—
Tuben, eitriger Inhalt	0	0	0	0	[2]
Ovarien rechts und links	0	—	0	0	—
Uterushöhle, eitriger Inhalt	0	0	0	0	[2]
Magen	0	0	—	—	—
Duodenum	+	+	—	—	—
Jejunum	+	+	—	—	—
Ileum	0	+	—	—	Massenhaft Bac. Proteus
Geschwür der Ileocoecalklappe	0	0	—	—	
Appendix	0	+	—	—	
Coecum, Colon ascendens	+	+	—	—	
Rectum	0	+	—	—	
Blasenwand	0	—	0	0	—
Seitenventrikel, Inhalt	0	—	0	0	—
Großhirn	0	—	0	0	—
Pons	0	—	0	0	—
Kleinhirn	0	—	0	0	—
Medulla oblongata	0	—	0	0	—
Ventrikel 4, Inhalt	0	—	—	0	—

[1] Zwei Gallensteine wurden chemisch untersucht; sie waren von bröckelig weicher Beschaffenheit und mit einer Pinzette leicht zu zerdrücken. Sie erwiesen sich als Cholestearin-Bilirubinsteine. In Äther-Alkohol unlösliche Bestandteile waren nicht vorhanden.

[2] Im Tuben- und Uteruseiter waren direkt gramnegative dicke plumpe Stäbchen. Kulturell gehörten diese der Coligruppe an; sie bildeten reichlich Gas in Traubenzuckerbouillon, trübten und röteten Lackmusmolke. Auf Endo wuchsen sie dick, schleimig, farblos. Außerdem fanden sich vereinzelte Tuberkelbazillen.



Zu diesem Protokoll ist noch folgendes zu erwähnen:

Der Gallenblaseninhalt wurde nach Abbrennen der Funduswand durch einen Einstich mittels steriler Pipette aspiriert und dann weiter verarbeitet. Die Steine wurden danach entfernt, in steriler physiologischer NaCl-Lösung mehrfach gewaschen und gespült. Nach dem Eintauchen in Alkohol wurden zwei Steine abgebrannt, zerkleinert und in je ein Galleröhrchen gebracht. Die beiden andern dienten zur chemischen Untersuchung. Die Gallenblasenwand wurde ebenfalls in steriler NaCllösung intensiv gewaschen, mit Alkohol abgebrannt und je ein Stück in Galle und in Bouillon gebracht. Aus beiden Röhrchen wuchsen **Rein**kulturen von Typhusbazillen.

Auf der ersten Endoplatte der in üblicher Weise verarbeiteten linken Nebenniere wuchsen etwa 15 Typhuskolonien.

Die anatomischen Veränderungen der einen später noch näher untersuchten Nierenpapille wurden erst im Laboratorium eingehender betrachtet und bakteriologisch untersucht (etwa 20 Stunden post mortem).

Die aus den verschiedenen Organen gezüchteten Typhusbazillen verhielten sich auf folgenden Nährböden völlig gleichartig; auch wurden sie vom Immunserum gleichmäßig agglutiniert bis 1 : 15000 (Titer $^1/_{20000}$) bei 2 Stunden im Brutschrank. Der Laboratoriumsstamm wurde bis zur Titergrenze agglutiniert. Nach achttägigem Umzüchten hatte die Agglutinabilität nicht zugenommen.

Nährboden	Wachstum
Endo- Agar	farblos, tautropfenartig
Malachitgrün- Agar	„ „
Schräg- Agar	zart durchsichtig
Gelatineplatte	nicht verfl., weinblattförmig
Bouillon Löffler	trübe, beweglich, kein Indol
Milch	keine Gerinnung
Traubenzuckerbouillon	kein Gas, Trübung
Kartoffel	farblos, unsichtbar
Lackmusmolke	klar, rot
Barsiekow 1	nicht verändert
„ 2	Rötung, koaguliert
Neutralrotagar	nicht verändert
Glyzerin-Rosolsäure-Bouillon	nach 48 Std. farblos
Blutplatte	Hämolyse
Lackmus-Mannit-Bouillon	Rötung, kein Gas
„ -Maltose- „	desgl.
„ -Rohrzucker-„	**blau,** kein Gas

Von unserm Laboratoriumsstamm sowie einer Reihe von Patientenstämmen wird die Lackmus-Rohrzucker-Peptonwasserbouillon (zur Diffe-



rentialdiagnose der Ruhrstämme) gerötet. Hierin ist bei dem vorliegenden Stamm W. ein andersartiges Verhalten zu konstatieren.

In dem Mandelbaumschen 10prozentigen Glyzerin-Rosolsäure-Peptonwasser, das von etwa 80 untersuchten Patientenstämmen nach 24 Stunden schon entfärbt wurde, wurde vom Stamm W. erst nach 2 Tagen die zur Entfärbung erforderliche Säure gebildet. Das Verhalten einer großen Reihe auf verschiedene Weise umgezüchteter Typhusstämme gegen diesen Nährboden wechselt sehr. Es gelang uns mehrfach, einen Typhusstamm, der die Fähigkeit hatte, nach 24 Stunden die Rosolsäure zu entfärben, durch Tierpassagen (Gallenblasenimpfungen) so zu verändern, daß diese Reaktion gelegentlich erst nach 5 bis 10 Tagen eintrat. Wir verfügen jetzt über eine ganze Reihe solcher Stämme.

Praktisch haben solche Mutationen nur unter gewissen Umständen Bedeutung, eben da, wo es wie bei den Mandelbaumschen Untersuchungen darauf ankam, einen solchen Träger „atypischer" Typhusbazillen zu entlarven. Wir halten es aber kaum für berechtigt oder gar wünschenswert, solche Stämme mit neuen Namen zu belegen. In Wirklichkeit sind es eben doch „Typhusbazillen".

Sektionsprotokoll. (Dr. Haberkant.)

Karoline W., geb. L. aus D., geb. 10. III. 1831, † 9. III. 1913.
Krankheitsform: Dementia senilis. Typhusbazillenträgerin.
Todesursache: Tuberkulose der Lungen.
Sektion: 4 Stunden post mortem.
Ganzes Gehirn: 1065 ^{grm}. Kleinhirn: 140 ^{grm}.

Stark abgemagerte Leiche von schmutzig-bräunlicher Hautfärbung und senilem Habitus. Ausgedehnter über handflächengroßer Decubitus sacralis. Über beiden Trochanteren ebenfalls ausgedehnter bis auf den Knochen gehender Decubitus.

Rippen teilweise stark verknöchert. Herzbeutel mit dem Herzen stellenweise fest verwachsen. Herz etwas größer als die Leichenfaust, schlaff, im Innern teils Leichengerinnsel, teils flüssiges Blut enthaltend. Pulmonal- und Aortenklappen zart, Mitralklappe am freien Rande etwas verdickt; an der Vorhofsfläche des medialen Trikuspidalzipfels, direkt an dessen Ansatz einige feine Gefäße im Endokard sichtbar. Herzmuskel braun; an der Herzspitze in der vorderen Wand eine größere Schwiele; die Kranzadern atheromatös verändert, ebenso die Innenfläche der Aorta ascendens.

Beide Lungen mit der Brustwand und dem Zwerchfell ausgedehnt verwachsen, besonders fest sind die Verwachsungen auf der linken Seite. Im linken Pleuraraum ein seröser Erguß etwa $^1/_2$ Liter; die den Erguß umgebende Wand ist an der Innenfläche mit dicken bernsteingelben Fibrinauflagerungen bedeckt. Der rechte Oberlappen durchsetzt von zahlreichen unregelmäßigen derben grauweißen Knötchen und Knötchengruppen; der Luft-



gehalt im ganzen vermindert, vereinzelte Knötchen auch im Mittel- und Unterlappen in der Nähe des Hilus. Lungenarterien frei; Bronchialschleimhaut blaß; Bronchialdrüsen nicht vergrößert, von einem schwärzlichen trockenen Brei erfüllt, anthrakotisch. Linke Lunge nur etwa halb so groß wie die rechte, die Pleura mit dicken Schwarten belegt, namentlich über dem Unterlappen. Ober- und Unterlappen luftleer; die Schnittfläche des Oberlappens durchsetzt von zahlreichen mit eitrigem Inhalt erfüllten Kavernen, Verkäsungen und grauweißen Knötchengruppen. Unterlappen grau, luftleer, schlaff, atelektatisch. Herausgeschnittene Stücke aus dem Unterlappen sinken im Wasser unter. Bronchialdrüsen auch hier anthrakotisch verändert. Lungenarterien frei. Aus dem Oberlappen herausgeschnittene Stücke sinken ebenfalls im Wasser unter.

Geringe Verwachsung des großen Netzes in Form eines Stranges, der sich nach der rechten Inguinalgegend hinzieht, mit der vorderen Bauchwand. Milz mit der Umgebung verwachsen, von entsprechender Größe; Oberfläche an zahlreichen Stellen fibrös verdickt; Schnittfläche rotbraun; Trabekel und Follikel gut sichtbar.

Das Bauchfell überall, am stärksten jedoch über dem Mesenterium und den Wandungen der Bauchhöhle von zahlreichen stecknadelknopf- bis hirsekorngroßen sehr dichtstehenden grauweißen Knötchen übersät, während das die Darmschlingen überziehende Peritoneum glatt und frei von Knötchen ist. Leber mit dem Zwerchfell ausgedehnt verwachsen, doch sind die Verwachsungen lösbar. Leber reichlich klein; vorderer Rand scharf; die Konsistenz derb; die Schnittfläche bietet das Bild der Fettleber, deutlicher Fettbeschlag. Die Gallenblase schlaff, im Innern vier haselnußgroße Gallensteine durchzufühlen.[1] Die Chylusgefäße im Mesenterium des Dünndarms gut sichtbar; die Mesenterialdrüsen sehr klein, nicht verändert; die Mesenterialvenen gefüllt.

Im Jejunum dünner schleimiger, schwach gelblich gefärbter Inhalt; die Schleimhaut durchweg injiziert, besonders im unteren Jejunum ist die Injektion der Falten sehr stark. Diese Injektion tritt partienweise auf, zwischen den injizierten Schleimhautpartien befinden sich immer blasse. In den injizierten Partien auch feinste dichtstehende Blutaustritte auf den Schleimhautfalten. Im Ileum spärlicher, mehr gallig gefärbter Inhalt. Auf der Klappe ileumwärts ein längliches bohnengroßes Geschwür mit leicht aufgeworfenen Rändern und gerötetem Grunde, der Längsdurchmesser des Geschwüres quergestellt zur Achse des Darms, in der Umgebung des Geschwüres nichts Auffälliges; weder Solitärfollikel noch Plaques deutlich zu sehen.

Nieren von entsprechender Größe, Kapsel glatt abziehbar, Oberfläche schwach gelappt, leicht körnig uneben; Farbe rotbraun. Schnittfläche etwas hyperämisch, zeigt im übrigen normale Zeichnung.[2] Linke Nebenniere

[1] Die Wandung erweist sich auf dem Durchschnitt gleichmäßig deutlich verdickt. Die Innenseite weist leichte eben erkennbare Zotten auf. Der Peritonealüberzug zeigt einige weißliche (tuberkulöse?) Knötchen. Verwachsungen mit Darm, Magen usw. bestehen nicht. Die Galle ist gelblich grün, zähflüssig.

[2] In einer Papille der rechten Niere findet sich ein etwa erbsengroßer, weißlicher Tumor, der sich von dem umgebenden Gewebe nicht trennen läßt.



derb; Schnittfläche läßt einen Gegensatz zwischen Rinde und Mark nicht mehr erkennen; das Organ besteht fast nur aus einigen derben, gelbweißen Knoten von etwas brüchiger Konsistenz (Tuberkulose?). Rechte Nebenniere normal.

Tuben stark geschlängelt; im Innern eitriger Inhalt, die freien Enden der Tuben an das Ovarium herangezogen; hier befinden sich größere mit rahmigem Eiter gefüllte Herde. Das linke Ovarium cystös verändert. Erosion der Portio vaginalis. Uterinhöhle mit eitrigem Inhalt erfüllt. Blase leer. Mastdarm ohne Besonderheiten.

Aorta descendens und Arteriae iliacae stark atheromatös verändert.

Magen, Duodenum und Pankreas bieten nichts Auffälliges. Arteria lienalis stark atheromatös.

Schädeldach symmetrisch von eiförmigem Querschnitt. Diploë überall gut sichtbar. Dura mit dem Knochen nicht verwachsen, gespannt, ihre Innenfläche beiderseits bedeckt mit einer dünnen feinen von größeren und kleineren Blutaustritten durchsetzten Membran. Starke Pacchiones. Pia im allgemeinen zart, an der Konvexität beiderseits schwach getrübt; in den Maschen viel Flüssigkeit; die Gefäße leer. Die basalen und mittleren Hirnarterien stark weißfleckig. Die Pia von der Oberfläche leicht und glatt abziehbar. Affenspalte links leicht ausgeprägt. Die Windungen im ganzen schmal, sonst von normalem Verlaufstypus. Die Seitenventrikel erheblich erweitert. Ependym im allgemeinen glatt, nur über dem Septum pellucidum fein granulös. Auf Querschnitten zahlreiche Blutpunkte der weißen Substanz. Rinde im ganzen verschmälert. Keine Blutungen, keine Herde. IV. Ventrikel in den Dachwinkeln fein granulös.

Kleinhirn, ebenso Brücke, Oblongata und Rückenmark ohne Besonderheiten.

Histologische Befunde.

Einer histologischen Untersuchung wurden sämtliche Organe unterzogen, die anatomische Veränderungen aufwiesen, und ferner diejenigen, aus denen Typhusbazillen gezüchtet wurden.

Zur histologischen Untersuchung dienten Gefrierschnitte von 10 bis 15 μ Dicke, die mit Hämatoxilin-Eosin bzw. mit van Gieson gefärbt waren. Zum Nachweis der Typhusbazillen in den Geweben wurden Paraffinschnitte mit Löfflers Methylenblau stark überfärbt und mit Essigsäurealkohol differenziert; ferner wurde hierzu nach der Gramschen Methode gefärbt.

In der Deutung der Schnitte hatte Hr. Privatdozent Dr. Tilp die große Liebenswürdigkeit mich zu unterstützen. Seine Diagnosen, für die ich ihm bestens danke, sind folgende:

„Die mikroskopische Untersuchung des Uterus ergab fast vollständige Zerstörung des Endometriums bis auf spärliche Drüsenreste. An Stelle des Endometriums findet sich eine käsige Nekrose-Zone, an deren Grenze gegen



das Myometrium epitheloide Tuberkeln mit Riesenzellen sichtbar sind. In den Arterien des Uterus trifft man starke, auf Arteriosklerose zu beziehende Gefäßveränderungen, bestehend in hyaliner Metamorphose und Verkalkung der Media sowie Intimawucherung Diese Veränderung des Endometriums reicht an Intensität allmählich abnehmend bis an die Epithelgrenze der Portio vaginalis uteri. Nach diesem Befunde und Nachweis von Tuberkelbazillen im Tubeneiter sowie in Übereinstimmung mit den übrigen tuberkulösen Veränderungen ist die beschriebene Veränderung der Tuben ebenfalls als tuberkulöser Natur anzusprechen.

Lunge. In den mikroskopischen Schnitten, die dem hinteren Abschnitt des linken Unterlappens entstammen, findet sich eine 2 bis 3 mm dicke Pleuraschwarte. Das Lungengewebe selbst war fast vollständig luftleer, die Aveolen komprimiert, die interalveolären Wände verdickt und durch schwieliges Gewebe ersetzt. In diesem hatte sich massenhaft anthrakotisches Pigment abgelagert. Die Bronchien waren mit einem schleimig eitrigen Exsudat gefüllt. An einzelnen Stellen sah man Konglomerattuberkel mit Riesenzellen.

In der Milz finden sich, abgesehen von der schon makroskopisch erkennbaren mächtigen Kapselverdickung und abgesehen von reichlichem braunen inter- und intrazellulär gelegenen körnigen Pigment ziemlich reichliche Miliartuberkel und Riesenzellen. Im Zentrum der linken Nebenniere liegt ein erbsengroßer Nekroseherd, an dessen Rande tuberkulöses Granulationsgewebe erkennbar ist. Bei einer zweiten Stelle, die der Untersuchung unterworfen wurde, findet sich ausgedehnte Verkäsung, die fast den ganzen Durchschnitt betrifft und nur an einer Seite ein schmales Rindenterritorium intakt läßt. Im Grenzgebiet zwischen gesundem und krankem Gewebe sind Epitheloidtuberkel und Riesenzellen.

Die mikroskopische Betrachtung der Niere ergab das Bild einer chronischen interstitiellen Nephritis leichten Grades und Zeichen einer senilen Atrophie. Der makroskopisch beschriebene Herd in der einen Papille erwies sich mikroskopisch als ein Herd von chronischer Tuberkulose.

Die Leber bot das Bild der Fettleber und an zahlreichen Stellen das einer frischen interstitiellen Entzündung. In der Nähe der großen Gallengänge war diese interstitielle Entzündung noch stärker, ohne daß sich ein Anhaltspunkt für Tuberkulose gewinnen ließ. Daselbst war auch stärkerer Ikterus der Leberzellen zugegen. Die großen Gallengänge der Leber und Gallenblasenwand lassen die normalen Schichten gut erkennen. An der Mucosa fehlt stellenweise das Epithel; an manchen Stellen sind auch kleine Drüsenräume zu finden, und dort hat sich derbes, narbenartiges Gewebe etabliert. Ab und zu sieht man in den tieferen Schichten der Mucosa, besonders aber in den äußeren Lagen der Muscularis entzündliche Infiltrate, die aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehen. In der Subserosa befinden sich einige miliare Tuberkeln mit Riesenzellen.“

Nester von gramnegativen Stäbchen (Typhusbazillen) fanden sich an zahlreichen Stellen der Muscularis und der Mucosa.

Einen gleichen Befund bieten die Gallengänge in der Nähe der großen Gefäße.

Das Geschwür auf der Ileocöcalklappe war tuberkulöser Natur.



Pathologisch-anatomisch wäre folgender Befund zu verzeichnen: 1. Chronische Lungentuberkulose mit Phthise, tuberkulöses Geschwür auf der Ileocöcalklappe, Tuberkulose des Uterus und der Tuben. Chronische Tuberkulose der rechten Niere und der linken Nebenniere, frischere Bauchfelltuberkulose. 2. Arteriosklerose und Herzschwiele. 3. Gehirnatrophie. 4. Cholelithiasis, Cholecystitis chronica. 5. Multipler Decubitus.

Kulturell ließen sich, wie Tabelle II zeigt, Typhusbazillen nachweisen in Galle, Gallenblasenwand, Lebergegend der großen Gefäße, Gallensteinen, einer Nebenniere und einer Niere, ferner im Darm.

In den histologischen Präparaten dieser Organe, sowie der übrigen typhusbazillenfrei befundenen Gewebe der Milz, der Lunge und der pleuritischen Schwarte, sowie des Knochenmarks der Rippenbögen und des Herzmuskels waren keine gramnegativen (Typhus-) Bazillen zu finden, mit Ausnahme von der Gallenblasenwand und der Gallengänge der Leber. Die Art der Lagerung der Bazillen in diesen galleführenden Gefäßen geht aus dem histologischen Protokoll hervor und steht im Einklang mit den früheren Befunden. Ob die Typhusbazillen aus der Galle in die Wand gewandert sind und sich hier ansiedelten, oder ob umgekehrt die Bazillen aus der Wand in die Galle übertraten und sich hier ansammelten, kann durch unseren heutigen Bericht ebensowenig wie durch frühere entschieden werden. Es sind indessen wohl beide Möglichkeiten vorhanden, bzw. kommen sie nebeneinander vor. Chiarolanza wies nämlich nach, daß nach Unterbindung des ductus cysticus Typhusbazillen nach intravenöser Injektion in die Gallenblase gelangen, d. h. durch die Wand in die Galle. Wir konnten in zahlreichen Versuchen unter Leitung von Hrn. Geh. Rat Uhlenhuth feststellen, daß Typhusbazillen durch direkte Impfung in die Gallenblase von Kaninchen eine chronische Cholecystitis erzeugen. In der verdickten Gallenblasenwand fanden sich Bazillennester; die Bazillen waren also aus der Galle in die Wand gewandert.

Von besonderem Interesse ist der kulturelle Nachweis der Typhusbazillen in der linken Nebenniere und in einer rechtsseitigen Nierenpapille. Beidemal fanden sie sich also in anatomisch mehr oder weniger veränderten Organen. Die histologische Untersuchung stellte hier alte tuberkulöse Herde fest. In den Schnitten waren keine Bazillen zu erkennen; auch waren kulturell nur relativ wenige Kolonien gewachsen. Diesen Befund möchten wir uns folgendermaßen erklären: Bei einer gelegentlichen Überschwemmung des Blutes mit Typhusbazillen, zu der es während des chronischen Typhusbazillenträgertums kam, siedelten sich in den alten tuberkulösen Herden Bazillen an. Die ungenügende Blutzirkulation an diesen Stellen oder auch die Alteration der Gewebe selbst verhinderte die Zerstörung der Bazillen. Eine Vermehrung der Typhusbazillen in der



Nierenpapille oder der Nebenniere glauben wir nicht annehmen zu dürfen.

Ein agonales Einwandern von Typhusbazillen oder gar eine Typhusbakteriämie ist ausgeschlossen, da eine große Reihe anderer Organe und das Blut frei von Bazillen waren.

Zusammenfassung.

Vorliegende Arbeit gibt einen eingehenden Bericht von einer chronischen Typhusbazillenträgerin. Berücksichtigt wurden der klinische Verlauf seit der Infektion, der bakteriologische und anatomische Befund bei der Sektion, die 4 Stunden post mortem schon erfolgen konnte. Als der Sitz der Typhusbazillen muß die chronisch entzündlich veränderte Gallenblasenwand und die Wand der Gallengänge in der Leber angesprochen werden. In der Niere und Nebenniere hatten alte tuberkulöse Herde die Typhusbazillen (vorübergehend?) beherbergt. Therapeutische Versuche mit Chemikalien und passiver Immunisierung hatten keinen Erfolg.

Literatur.

Bindseil, *Diese Zeitschrift.* 1913. Bd. LXXIV. S. 269. — Die übrige Bazillenträgerliteratur vgl. *Ebenda.*

Gaethgens, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1909. Nr. 35.

Chiarolanza, *Diese Zeitschrift.* Bd. LXII.

Uhlenhuth u. Messerschmidt, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 51.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rostock.]
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer.)

Über den Einfluß bakterieller Infektionen des Blutserums auf den Ausfall der Komplementbindungsreaktion.

Von

Stabsarzt Dr. **Donges,**
kommandiert zum Institut.

Ein zur Untersuchung auf Lues (Wassermannsche Reaktion) eingesandtes Serum, dessen Originaluntersuchung vollkommen negativ ausgefallen war, ergab nach 6 Wochen bei zufälliger Verwendung als negatives Kontrollserum bei der W.-R. die Komplementbindung mit luetischem Antigen (syphilitisches Leberextrakt) schwach positiv, bzw. die komplette Hämolyse blieb aus. Äußerlich war irgend eine Veränderung des Serums nicht festzustellen; das Serum war klar mit etwas Bodensatz in der Kuppe des Reagensglases; es war in einem ungeheizten Raume (von Anfang Januar bis Ende Februar) unter Lichtabschluß aufbewahrt gewesen.

Bei der Untersuchung fanden sich mikroskopisch zahlreiche große Kokken und vereinzelt plumpe Kurzstäbchen; kulturell wuchsen auf Agar spärlich kleine isolierte knopfförmige Kolonien mit deutlicher Rötung des Drigalskiagars (Säurebildung) — mikroskopisch die Stäbchen — und üppig blauweiße saftige ineinanderfließende Kolonien ohne Säurebildung — die Kokken.

Es handelte sich also um ein durch Saprophyten zufällig infiziertes Serum. Da ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Ausbleiben der kompletten Hämolyse und der Anwesenheit der saprophytischen Mikroorganismen nicht von der Hand gewiesen werden konnte, habe ich eine Reihe von Sera untersucht, die von auf Lues verdächtigen Personen stammten und die zur Untersuchung auf Lues (W.-R.) eingesandt waren.



Diese Serumproben — im ganzen 65 — hatten in verschlossenen Gefäßen ungeöffnet seit der Originaluntersuchung zwischen 2 und 8 Wochen teils unter denselben Bedingungen wie das erste Serum, teils im Eisschrank dunkel aufbewahrt gestanden; bei allen war die Untersuchung (W.-R.) seinerzeit negativ ausgefallen, und bei allen war äußerlich außer geringem bis stärkerem Bodensatz irgend eine auffallende optisch beim durchscheinenden Lichte sichtbare Veränderung oder Verunreinigung nicht wahrzunehmen; einige stark veränderte Sera, die durch Trübung, Verfärbung, Geruch, teilweise auch durch Häutchenbildung auffielen, schied ich von vornherein aus.

Von den 65 Sera waren 33 vollkommen steril geblieben und zeigten bei der zweiten Verwendung die W.-R. vollkommen negativ; bei 27 Sera fand sich Infektion durch Saprophyten (Luftkokken, -stäbchen, Sarcinen), mikroskopisch vereinzelt bis reichlich Mikroorganismen und auf Agar spärliches bis üppiges Wachstum, teils mit, teils ohne Säurebildung (Drigalskiagar); bei der zweiten W.-R. differierte die Hämolyse von komplett bis vollkommen ausbleibend, und zwar zeigten die Sera mit spärlichem bakteriologischen Befund und geringem Wachstum — 21 — Hämolyse, die mit reichlichem bakteriologischen Befund und üppigem Wachstum — sechs, darunter zwei der Sera, die auf Eis gestanden hatten — teilweises bis vollkommenes Ausbleiben der Hämolyse; außerdem blieb bei zwei dieser Sera in den Serumproben ohne Antigenzusatz die Hämolyse aus (Eigenbindung), und nach kurzer Zeit trat violette Verfärbung ein. Die Sera mit spärlichem Bakterienbefund waren durchschnittlich jüngeren Datums, die mit reichlichem Befund waren zwischen 4 und 8 Wochen alt.

Bei einer dritten Gruppe von Seren — fünf, zwischen 4 und 8 Wochen alt — fanden sich weder mikroskopisch noch kulturell irgendwelche Mikroorganismen; dabei zeigten diese früher bei der W.-R. negativen Sera jetzt schwächeres bis deutliches Ausbleiben der kompletten Hämolyse. Auf die Frage, ob diese Sera infiziert waren, die Mikroorganismen später zugrunde gegangen sind, und diese und deren Stoffwechselprodukte die Veränderung der Sera verursacht haben, die in dem Umschlag der Reaktion zum Ausdruck kommt, oder ob durch innere chemische und physikalisch-chemische Umsetzungen der Sera dieses Phänomen der Reaktionsänderung bedingt ist, will ich nicht näher eingehen. In der Literatur finden sich eine Reihe von Arbeiten, die sich mit dem Vorkommen der „paradoxen" Sera und deren Ursachen beschäftigen; während ein Teil der Untersucher diese Erscheinung auf Ungenauigkeiten in den verwendeten Reagentien und deren wechselnde Unterschiede und Veränderungen zurückführt, suchen andere sie durch innere chemische und physikalisch-chemische Vorgänge und Umsetzungen in den Seren zu erklären.

Außerdem kamen 22 negative (W.-R.) Sera zur Untersuchung, bei denen zwischen erster und zweiter Untersuchung 4 bis 8 Tage lagen; diese Sera waren sämtlich unverändert negativ und steril geblieben.

Tabelle I.

	Gesamtzahl	unverändert (komplette Hämolyse)		verändert (inkomplette bis keine Hämolyse)	
A. Sera, bei denen zwischen I. u. II. Untersuchung 2—8 Wochen lagen (auf Eis bzw. im kühlen Raum aufbewahrt)	65	54 (= 83 %)		11 (= 17 %)	
		steril geblieben	gering infiziert	steril geblieben	stark infiziert
		33 (= 50 %)	21 (= 32 %)	5 (= 7—8 %)	6 (= 9 %)
B. Sera, bei denen zwischen I. u. II. Untersuchung 4—8 Tage lagen (im kühlen Raum aufbewahrt)	22	22 (= 100 %)		—	
		22 (= 100 %)	—	—	—

Auf Grund der Befunde habe ich sterile und normale Sera künstlich mit verschiedenen Mikroorganismen infiziert, besonders auch mit solchen, die als zufällig Sera infizierende in Betracht kommen. Ich habe von Saprophyten: Luftkokken, Luftstäbchen, Sarcinen, Bac. subtilis zur Untersuchung herangezogen, von pathogenen Mikroorganismen: Typhusbazillen, Colibakterien, Staphylokokken, Streptokokken und Pneumokokken. Die infizierten Sera blieben 24, 48 und 72 Stunden unter Lichtabschluß stehen; ein Teil der Sera wurde in den Eisschrank gestellt, ein Teil im ungeheizten Raum, ein anderer Teil im Brutschrank (37°) aufbewahrt. Verimpft wurde 1 Öse (= 2 mg) Bakterienkultur auf 2 ccm Serum; bei größeren Serumproben wurde der eine Teil mit je 1 Öse, der andere Teil mit je 3 Ösen Bakterienkultur infiziert; bei einigen größeren Serummengen wurden die einzelnen Proben so gewählt, daß außer der Untersuchung nach 24 Stunden mit demselben infizierten Serum noch Untersuchungen nach 48 und 72 Stunden angesetzt werden konnten; bei vier großen Serummengen konnten die Infektionen mit allen gewählten Bakterienarten ausgeführt werden. Die Sera zeigten nach der Infektion geringe bis starke Trübung, die sich allmählich zu Boden setzte; nach einigen Stunden waren die infizierten Sera außer geringem Bodensatz in der Kuppe des Reagensglases teilweise kaum von anderen — sterilen — Sera zu unterscheiden, teilweise war starker Bodensatz vorhanden, und die anfangs aufgetretene Trübung blieb unverändert bestehen. Beim äußerlichen Vergleichen im durch-

scheinenden Licht fand sich eine Reihe von steril gebliebenen und normalen Sera, die teilweise stärker getrübt waren als die künstlich und zufällig infizierten; bei einigen fanden sich ebenfalls teils geringe, teils starke Bodensätze (Eiweiß, Blutkörperchen, Fett); aus der Trübung und dem Bodensatz allein konnte nicht ohne weiteres auf eine Infektion der Sera geschlossen werden; darüber gaben die mikroskopische und kulturelle Untersuchung Aufschluß.

Die Komplementbindungsreaktion wurde in der Weise angestellt, daß für jede Serumprobe drei Röhrchen angesetzt wurden: die Serummenge 0·2 und 0·1 mit Antigen, die Serummenge 0·4 ohne Antigen. Kontrollen wurden fünf angesetzt (Kontrolle der Hammelblutkörperchen + NaCl-Lösung, des hämolytischen Systems, des negativen Serums, des positiven Serums, der doppelten Menge Antigen ohne Serum). Als Antigen wurden luetische Fötalleberextrakte und Rotzbazillenextrakte verwandt — im ganzen fünf verschiedene luetische und zwei verschiedene Rotzbazillenextrakte; der Titer wurde jedesmal festgestellt; da die Versuche innerhalb kurzer Zeit ausgeführt wurden, war eine Änderung der betreffenden Titer nicht zu beobachten; als Komplement wurde die jedesmal für das hämolytische System geprüfte Menge frischen Meerschweinchenserums genommen, das nach 15 Minuten langem Zentrifugieren aus durch Herzpunktion jedesmal neu entnommenen Meerschweinchenblut gewonnen wurde, durchschnittlich 0·1 Serum bei luetischem Antigen bzw. 0·03 Serum bei Rotzbazillenantigen; als Ambozeptor wurde das dreifache Multiplum der einfach lösenden Dosis genommen — in den Versuchen 0·1/60·0 NaCl-Lösung (0·85 Prozent) —; die Hammelblutkörperchen (dreimal gewaschen) waren 5prozentig. Die Resultate der Versuche wurden nach 2 Stunden abgelesen und am nächsten Tage nochmals verglichen.

Es stellte sich, wie zu erwarten war, heraus, daß die Menge des Infektionsmaterials, die Zeit der Einwirkung desselben und die Temperatur, unter der die infizierten Sera standen, von Einfluß waren auf die verschieden starke Hemmung der Hämolyse.

Bei den Sera, die bei 37° (Brutschrank) gehalten wurden, waren die Reaktionsänderungen sowohl bei Infektion mit 1 Öse Bakterienkultur, als auch besonders bei Infektion mit 3 Ösen Bakterienkultur meistens bereits nach 24stündiger Einwirkung deutlich zu beobachten; auch die Eigenbindung trat auf. Dieser Ausfall der Reaktionsänderung erklärt sich aus der starken Vermehrung der Bakterien bei der optimalen Temperatur und der hierdurch intensiven Beeinflussung der Sera; die Sera waren nach der Einwirkungszeit trüb und hatten starken Bodensatz.

Die Infektion der auf Eis stehenden Sera hatte während der Versuchsdauer von 24 bis 72 Stunden bei Infektion mit 1 Öse Bakterien-



material keinen Einfluß auf den Ausfall der Komplementbindungsreaktion; bei Infektion mit 3 Ösen Bakterienkultur trat je nach der Länge der Einwirkungszeit der Umschlag der Reaktion in geringem Grade mit schwachem Unterschied ein; die Sera waren, abgesehen vom Bodensatz, fast unverändert geblieben. Die Kälte (im Eisschrank) hat auf die Vermehrungstätigkeit der Bakterien hemmenden Einfluß, und das Aufbewahren im Eisschrank läßt die Einflüsse einer Infektion auf die Sera nur langsam zur Wirkung kommen; daß die Aufbewahrung im Eisschrank nicht genügt, um das Fortschreiten einer zufälligen Infektion eines Serums vollkommen zu verhindern und den Einfluß derselben auf das Serum vollständig zu hemmen, zeigte sich bei den beiden bei der Originaluntersuchung negativen (W.-R.) Sera, die, zufällig infiziert, auf Eis standen und nach 6 Wochen vollkommene Reaktionsänderung (Ausbleiben der Hämolyse) aufwiesen.

Bei Aufbewahrung der Sera im kühlen Raum (Zimmertemperatur) traten die Reaktionsänderungen verschieden auf. Bei Infektion mit 1 Öse Bakterienkultur war nach 24 Stunden im allgemeinen die Reaktionsänderung überhaupt nicht oder nur ganz wenig zu beobachten; bei Infektion mit 3 Ösen Material trat die Reaktionsänderung öfters schon deutlich ein; bei solchen, bei denen nach 24 Stunden noch keine Änderung eingetreten war, änderte sich das Bild nach 48 und 72 Stunden; bei Infektion mit Luftkeimen, Staphylokokken, Typhus- und Colibakterien trat meist schon nach 24stündiger Einwirkung ein Ausbleiben der Hämolyse — in verschiedenen Graden — ein; nach 48 Stunden verstärkte sich meistens die Reaktionsänderung; oft blieb in den Serumproben ohne Antigenzusatz die Hämolyse aus (Eigenbindung), und häufig trat violette Verfärbung auf. Bei einigen Seren, die für Typhus bei der Widalschen Reaktion positiv, ja teilweise stark positiv waren, und bei denen Typhusbazillen gefunden wurden, war — mit Ausnahme eines einzigen — komplette Hämolyse; ob dieses Serum von einem Luetiker stammte, war nicht festzustellen. Bei Pneumokokkeninfektion der Sera fand sich nach 24 Stunden noch durchweg Hämolyse. Bei den Streptokokkeninfektionen der Sera waren einigemal solche, die nach 24- bis 48stündiger Einwirkung noch komplette Hämolyse zeigten, und solche, bei denen bereits deutlich die komplette Hämolyse ausblieb; bei der Untersuchung auf Hämolyse der Streptokokken auf Blutagar zeigte sich, daß die nicht hämolytischen Streptokokken komplette Hämolyse bei der Komplementbindungsreaktion aufwiesen, dagegen bei den hämolytischen Streptokokken die komplette Hämolyse bei der Komplementbindungsreaktion ausblieb; erst nach längerer Einwirkungszeit trat auch bei den mit nicht hämolytischen Streptokokken infizierten Sera Reaktionsänderung ein.

Tabelle II.

Sera, nach der Infektion bei 37° gehalten (Brutschrank).

		Luftkeime			Staphylokokken			Bac. subtilis		
		6	7	8	6	7	8	6	7	8
1 Öse Infektions-material	nach 24 Stunden	+	—	—	+	—	—	±	—	—
	„ 48 „									
	„ 72 „	+	±	±	+	—	±	+	±	±
3 Ösen Infektions-material	„ 24 „	+	—	±	+	—	±	+	—	+
	„ 48 „									
	„ 72 „	++	±	+	++	±	+	++	±	++

6 = Serummenge 0·2 mit Antigen 1 ccm je nach Titer.
7 = „ 0·1 „ „ ½ „ „ „ „
8 = „ 0·4 ohne Antigen.

Tabelle III.

Sera, nach der Infektion im Eisschrank aufbewahrt.

		Luftkeime			Staphylokokken			Bac. subtilis		
		6	7	8	6	7	8	6	7	8
1 Öse Infektions-material	nach 24 Stunden	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ 48 „									
	„ 72 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 Osen Infektions-material	„ 24 „	±	—	—	±	—	—	—	—	—
	„ 48 „									
	„ 72 „	+	—	—	+	—	±	±	—	—

Es bedeuten:

++ = vollkommen ausgebliebene Hämolyse (komplette Hemmung).
+ = inkomplette Hämolyse (inkomplette Hemmung).
± = zweifelhafte Hämolyse (Spur bis schwache Hemmung).
— = komplette Hämolyse.

Es gelingt demnach durch Zusätze bestimmter Mikroorganismen, die auch als zufällig infizierende in Betracht kommen, normale Sera so zu verändern, daß bei der Komplementbindungsreaktion — in diesen Versuchen mit luetischem Antigen und Rotzbazillenextrakt — die Hämolyse teilweise bis vollkommen ausbleibt.

Worauf beruhen die Einflüsse und welcher Art sind sie?



Tabelle IV.

(Große Serumprobe, bei der die experimentelle Infektion mit allen gewählten Mikroorganismen angesetzt werden konnte.)

	nach Stunden	Luftkeime			Staphylo-kokken			Typhus-Bac.			Coli-Bac.			Pneumo-kokken			nicht hämolyt. Strepto-kokken			hämolyt. Strepto-kokken		
		6	7	8	6	7	8	6	7	8	6	7	8	6	7	8	6	7	8	6	7	8
1 Öse Infektions-material	24	–	–	–	±	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	48													–	–	–	–	–	–	±	–	–
	72	±	–	±	+	–	±	±	–	±	+	–	±	±	–	–	±	–	–	+	–	±
3 Ösen Infektions-material	24	±	–	–	+	–	±	+	±	+	+	±	+	–	–	–	–	–	–	±	–	–
	48													±	–	–	±	–	–	+	–	±
	72	+	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	–	±	+	–	±	+	–	+

Es ist ganz davon abzusehen, daß der Grund der Komplementbindung auf einer Antikörperbildung beruht; die Komplementbindung ist nur eine scheinbare, und die Hemmung und Bindung ist wohl durch chemische innere Veränderungen und Umsetzungen der Sera durch die Bakterien und deren Stoffwechselprodukte zu erklären; dafür spricht auch die Eigenbindung. Vielleicht wird das Komplement teilweise oder ganz zerstört, und die teilweise bis vollkommene Komplementzerstörung ist der Grund für die scheinbare Komplementbindung bzw. für das Ausbleiben der Hämolyse. Bei einigen Versuchen blieb in der Serummenge 0·2 mit Antigenzusatz zuerst die komplette Hämolyse aus, während sie in der Serummenge 0·4 ohne Antigen vorhanden war. Das Antigen ist demnach in irgend einer Weise beteiligt; denn sonst ist es nicht zu erklären, daß in der einfachen Serummenge 0·2 mit Antigen früher die Hämolyse ausbleibt als in der doppelten Serummenge 0·4 ohne Antigen. Welche antihämolytischen und antikomplementären Vorgänge und Umsetzungen in den Seris durch die Bakterieneinwirkung stattfinden und hierfür schuld sind, und in welcher Weise das Antigen an den Reaktionsänderungen beteiligt ist, darüber geben nur eingehende Untersuchungen auf physikalisch-chemischer Grundlage Aufschluß.

Was die praktische Seite dieser Untersuchungen anbetrifft, so kann man nach den Untersuchungsresultaten annehmen, daß die zufälligen Infektionen der Sera, die bei der Abnahme des Blutes (Staphylokokken auf der Haut) und bei der Vorbereitung für die Komplementbindungsreaktion (Luftkeime) vorkommen können, für den Ausfall der Reaktion bedeutungslos



sind, wenn die Untersuchung sofort oder nach kurzer Zeit erfolgt, weil derartige Infektionen meist nur mit einer verschwindend kleinen Menge von Bakterien stattfinden; bei diesen zufälligen Infektionen handelt es sich meist um einen oder einzelne Keime; ferner werden durch die bakteriziden Eigenschaften der Sera die Keime teilweise unwirksam gemacht, teilweise wohl auch abgetötet; auch die Vermehrungstätigkeit wird geschädigt; das Aufbewahren im Eisschrank wird außerdem die Vermehrungstätigkeit hemmen, so daß die Vermehrung der Mikroorganismen bei kurzer Aufbewahrungszeit nur unbedeutend ist. Bei der Infektion mit reichlicherem Material (nicht genügend sterile Spritzen und Aufnahmegefäße) braucht der Ausfall der Reaktion noch nicht beeinflußt zu werden, wenn zwischen Abnahme des Blutes und Ansetzen der Reaktion auch nur kurze Zeit liegt. Anders ist es dagegen, wenn darüber mehrere Tage vergehen (Versendung von Blutproben, besonders während der heißen Jahreszeit auf größere Entfernungen), so daß die Bakterien sich stark vermehren und durch die Bakterieneinwirkung die Sera in Umsetzungen übergehen können.

Aus den Versuchen geht hervor, daß nach Einwirkung von reichlichem Bakterienmaterial in der Serumprobe 0·2 mit Antigen, teilweise auch in der Serumprobe 0·1 mit Antigen die komplette Hämolyse ganz oder teilweise ausbleiben kann, während die doppelte Serummenge 0·4 ohne Antigen diese noch komplett zeigt, und ohne daß eine violette Verfärbung oder sonstige auffallende Färbung zu beobachten ist; in den Mengen, in denen die Komplementbindungsreaktion angesetzt wird, zeigt sich diese Hemmung und Bindung in typischer Weise ohne Unterschied zu dem Bilde eines positiven Ausfalles; dieser Umstand könnte Anlaß zu falschen Urteilen werden. Ferner könnte bei Verwendung von früher negativen Sera, die bei der Originaluntersuchung zufällig infiziert wurden und die dann längere Zeit gestanden hatten, als negative Kontrollsera, und bei Nachfragen, bei denen aus besonderen Gründen (Unmöglichkeit, nochmals Blut zu bekommen) ein nochmaliges Ansetzen der Reaktion erforderlich ist, der Fall eintreten, daß infolge der Bakterieneinwirkung auf die Sera ein falsches Resultat gezeitigt würde. Bei allen Versuchen war kein einziges der verwendeten Sera durch die Bakterieninfektion so verändert worden, daß es durch Mißfarbe, Geruch, Häutchenbildung als stark verändert auffiel. Die stark veränderten Sera, die starke und augenscheinliche Unterschiede zu normalen Sera zeigten, wurden, wie erwähnt, bei diesen Versuchen ausgeschaltet.



Zusammenfassung.

1. Die zufällige wie die experimentelle Infektion normaler Sera mit kleinen Bakterienmengen ist bei kürzerer Einwirkungszeit ohne Einfluß auf das Verhalten der Sera bei der Komplementbindungsreaktion.

2. Durch Infektion mit reichlichen Bakterienmengen gelingt es, normale Sera so zu verändern, daß bei der Komplementbindungsreaktion die Hämolyse ausbleibt und die Sera Eigenbindung zeigen. Diese Veränderungen der Sera brauchen äußerlich nicht erkennbar zu sein als Trübung, Verfärbung, Häutchenbildung, Geruch.

3. Bei diesen bakteriellen Infektionen der Sera sind außer der Menge der Bakterien, deren Einwirkungszeit und die Temperatur, unter denen die infizierten Sera gehalten werden, von maßgebendem Einfluß auf den Ausfall der Komplementbindungsreaktion.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Göttingen.]
(Direktor: Prof. Dr. Reichenbach.)

Versuche über Kombination von Desinfektionsmitteln.

Von

Wilhelm Frei,
Assistenten des Instituts.

Erster Teil.

Den ersten Versuchen, Desinfektionsmittel zu kombinieren, lag das Bestreben zugrunde, die Wasserlöslichkeit des Steinkohlenteers und seiner Destillationprodukte, denen man eine besonders starke Desinfektionswirkung zuschrieb, zu erhöhen.

Schon J. Lemaire hat im Jahre 1860 den Vorschlag gemacht, Seifenlösung zur Herstellung einer Steinkohlenteeremulsion zu benutzen und diese zur Vernichtung von Insekten und auch zur Wundbehandlung anzuwenden.

Dieser Vorschlag geriet in Vergessenheit.

Später gingen erneute Bestrebungen in dieser Richtung von der chemischen Industrie aus. Es wurden zwei Wege eingeschlagen. Zum Teil benutzte man die Säure, um die Phenole wasserlöslich zu machen; das erste derartige Mittel war das Aseptol. Zum Teil wandte man die Seife an und produzierte das Sapokarbol. Lysol, Kreolin und später noch viele andere mehr.

Diese Präparate kamen in den neunziger Jahren des vorigen Jahrhunderts in den Handel, zur Zeit, wo die Medizin durch die grundlegende Arbeit von R. Koch „Über Desinfektion“[1] in die Lage versetzt war, einwandfrei den Wert von Desinfektionsmitteln zu prüfen. Alsbald wurden auch zahlreiche Untersuchungen über die neuen Mittel angestellt. Hueppe[2] prüfte das Aseptol und empfahl es als Desinfektionsmittel. Ein Jahr später erfand Laplace[3], ohne Kenntnis davon, nochmals die gleiche Kombination und stellte fest, daß eine Mischung von 2 Prozent roher Karbolsäure und

[1] Koch, *Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1881. Bd. I.

[2] Hueppe, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1886. S. 609.

[3] Laplace, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1887. S. 867.

1 Prozent reiner Salzsäure stärker wirke als die Karbolsäure und die Salzsäure allein. Genaues über den Grad dieser Verstärkung erfahren wir noch nicht. Die Befunde Laplaces wurden durch C. Fraenkel[1] bestätigt.

Über Teerprodukte-Seifenmischungen hat Henle[2] an Kreolin die ersten genauen Untersuchungen gemacht, auf die weiter unten noch näher eingegangen wird.

Der Firma Dr. F. von Heyden Nachfolger gelang es, eine neue Art der Lösung von Kresolen in Wasser zu ermöglichen: durch Mischung von Kresol und salizylsaurem Natrium oder auch anderer chemisch verwandter Salze im Wasser wurden neutrale, wasserklare Lösungen, „Solveole", hergestellt, über deren gute Wirksamkeit zunächst Hueppe[3] und Hammer[4] berichteten.

Von weiteren Kombinationen von Substanzen zum Zwecke der Desinfektion sollen noch die Zusätze zum Sublimat erwähnt werden. Da reine Sublimatlösungen infolge Bildung von Quecksilberalbuminaten für eiweißhaltige Stoffe nicht zu verwerten sind, hat schon im Jahre 1845 Mialhe[5] einen Zusatz von Chlornatrium oder Chlorammonium in Vorschlag gebracht. Liebreich[6] kam auf diesen Vorschlag zurück. Laplace empfahl aus demselben Grunde eine Kombination von Sublimat mit Weinsäure und fand bei dieser eine bessere Desinfektionswirkung auf infiziertes menschliches Blut, als bei Sublimat allein.

Von einem ganz anderen Gesichtspunkte aus wandte Rotter[7] eine Mischung verschiedenster Desinfektionsmittel an. Er wollte die Giftwirkung der üblichen Konzentrationen vermeiden und mischte deshalb eine Reihe von Stoffen in Mengen, die höchstens bis an die Grenze der zehnfach geringeren Dosis der bisher üblichen Anwendungsweise herankamen und so einzeln nicht imstande waren, „eine spezifisch toxische Wirkung dem Körper gegenüber auszuüben, während anderseits die Summe der Mittel doch die lokale volle antiseptische Wirkung zu entfalten vermochte." Die Versuche, die er anstellte, sind infolge der unvollkommenen Technik nicht zu verwerten; es ist mir auch nicht bekannt, daß später mit geeigneter Methode sein Vorschlag nachgeprüft worden ist. Jedenfalls war hier zum erstenmal auf das allgemeine Prinzip hingewiesen worden: mehrere Desinfektionsmittel zusammen können sich in ihrer Wirkung summieren, während man bisher immer nur die gute oder bessere Wirkung eines speziellen Gemisches, und auch das nur gewissermaßen als sekundären Befund, konstatiert hatte.

Bald nach der Arbeit Rotters erschien die von Henle, der, unabhängig von ersterem, die gleiche Idee äußerte und auch die quantitativen Verhältnisse, die sich hierbei ergaben, genauer berücksichtigte. Er wies darauf hin, daß die Desinfektionskraft des Gemisches gleich der Summe der Desinfektionskräfte beider Komponenten sein, hinter ihr zurückbleiben oder sie

[1] C. Fraenkel, *Diese Zeitschrift.* 1889. Bd. VI.

[2] Henle, *Archiv f. Hygiene.* 1889. Bd. IX. S. 188.

[3] Hueppe, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1891. S. 1094.

[4] Hammer, *Archiv f. Hygiene.* 1891. Bd. XII.

[5] Mialhe, zitiert nach Liebreich.

[6] Liebreich, *Therapeut. Monatshefte.* 1887. Nr. 1.

[7] Rotter, *Centralblatt f. Chirurgie.* 1888. S. 729.



auch übertreffen könne. Für diesen letzteren Fall gelang es ihm bei einwandfreier Versuchsanordnung den Beweis an der Wirkungsweise des Kreolin Pearson zu erbringen, in der Hauptsache ein Gemisch von indifferenten aromatischen Kohlenwasserstoffen, Kresolen und Harzseifen.

Später wurde noch wiederholt im Anschluß an die Prüfung einzelner Desinfektionsmittel oder auch bei vereinzelten aus theoretischen Gründen vorgenommenen Mischungen mehrerer Substanzen eine verstärkte oder auch verminderte Wirkung spezieller Kombinationen gefunden.

Ein besonders schlagendes Beispiel für eine Verstärkungswirkung ist von Reichenbach in seiner Arbeit: „Die desinfizierenden Bestandteile der Seifen“[1] gegeben worden. Er wies nach, daß die Desinfektionskraft von Kalilauge durch die Hinzufügung kleiner, an sich ganz unwirksamer Seifenmengen enorm gesteigert werden kann. Eine Erklärung für die Wirkung der Seife zu finden, hat Reichenbach, da die Versuche in anderem Zusammenhange angestellt wurden, damals nicht versucht.

Für die ganze Frage der Kombination von Desinfektionsmitteln erscheint aber die Aufklärung dieser Verstärkungswirkung sehr wünschenswert. Ich habe deshalb auf Anregung von Hrn. Prof. Reichenbach das Verhalten der Seife zu Kalilauge und anderen Desinfektionsmitteln näher studiert und zugleich versucht, andere Kombinationen zu finden, aus deren näherer Untersuchung sich vielleicht eine Gesetzmäßigkeit in der Wirkung von Kombinationen verschiedener Mittel ergeben würde.

Versuchstechnik.

Die zu dem Versuche verwandten Lösungen wurden erst kurz vor diesem mit frisch gekochtem und wieder auf Zimmertemperatur abgekühltem destillierten Wasser hergestellt.

Nur in einem Falle wurde zuerst davon abgesehen, die Lösung stets frisch zu bereiten. Phenollösungen von niedriger Konzentration wurden anfänglich 1 bis 2 Wochen lang benutzt. Es zeigte sich aber im Laufe der Versuche, daß sie mit der Zeit an Wirksamkeit abnahmen. Die in verschiedenen Versuchen differierende Wirksamkeit ein und derselben Phenolkonzentration ist zum Teil wohl darauf zurückzuführen. Woher das kommt, ist nicht näher untersucht worden. Es wäre möglich, daß die Flasche, in der die Lösung aufbewahrt wurde, Spuren von Alkali abgegeben hat, die zur Bildung von unwirksamem Phenolalkali geführt haben. Später, als die Verdünnungen immer frisch aus einer konzentrierten Standardlösung ($93 \cdot 79^{\text{grm}}$ Phenol + $6 \cdot 21^{\text{grm}}$ Wasser) hergestellt wurden, ergaben sie gleichmäßigere Werte.

Auch andere Stoffe zeigten nicht in jedem Versuch die gleiche Desinfektionswirkung. Man kann die Ursache dafür vielleicht darin erblicken, daß die Zimmertemperatur nicht immer gleich hoch war. Da aber stets nur die Werte einer Versuchsreihe miteinander verglichen wurden, tat das den Ergebnissen keinerlei Abbruch.

---

[1] Reichenbach, *Diese Zeitschrift.* 1908. Bd. LIX. S. 296.



Zu den Versuchen wurden einen Tag alte Kulturen auf schräg erstarrtem, schwach alkalischem Nähragar mit einem Kochsalzgehalt von $^1/_2$ Prozent benutzt. Als Testobjekt diente ein alter Laboratoriumsstamm von Bact. coli. Es wurde kein frisch isolierter Stamm genommen, um bei den durch längere Zeit sich hinziehenden Versuchen ein möglichst gleichmäßiges Material zu haben. Bact. coli wurde wegen seiner bequemen Handhabung angewandt. Im allgemeinen wurden die Versuche nur mit dieser einen Bakterienart ausgeführt, also gelten die gezogenen Schlüsse eigentlich nur für Bacterium coli und auch hier nur für diesen empfindlichen, an künstliche Nährböden angepaßten Stamm. Einer der wesentlichsten Versuche wurde allerdings zugleich mit Staphylococcus pyogenes aureus angesetzt und ergab dabei dasselbe Resultat.

Die Bakterien wurden in destilliertem Wasser aufgeschwemmt, und zwar wurden zu dem Inhalt je eines Agarröhrchens 2 ccm Wasser genommen. Nach gutem Durchschütteln wurde die Aufschwemmung durch ein Faltenfilter filtriert.

Von ihr wurden gewöhnlich je 3 Tropfen in 12 ccm der zu prüfenden Lösungen gebracht, die sich in Bechergläschen aus Jenenser Glas von gleichen Dimensionen befanden.

Die Stärke der Desinfektionslösungen war meist so gewählt, daß in etwa 2 Stunden der Prozeß abgelaufen war.

Gewöhnlich wurde nach 5, 10, 20, 40, 60 und 120 Minuten aus den Gläschen nach vorherigem guten Durchschütteln je eine große Platinöse voll entnommen und in Reagensröhrchen mit verflüssigter Gelatine gebracht. Nach gründlichem Durchmischen wurden die Röhrchen schräg gelegt.

Sie wurden bei 22° C gehalten und 1 Woche lang beobachtet. Es wurden folgende Wachstumsunterschiede vermerkt:

reichlich (kein Unterschied gegenüber der Kontrolle),
Spur vermindert,
vermindert,
vermindert bis deutlich vermindert,
deutlich vermindert,
deutlich bis stark vermindert,
stark vermindert (die oberflächlichen Kolonien beginnen sich von den tiefen abzuheben),
stark bis sehr stark vermindert,
sehr stark vermindert.

Von der Grenze der Schätzbarkeit an wurde die Zahl der Kolonien schätzungsweise angegeben. Mit dem zuerst abgeschätzten Röhrchen wurden dann die übrigen derselben Größenordnung verglichen.

Von etwa 150 Kolonien an wurde gezählt.

Als Nährboden dienten je 8 ccm einer schwach alkalischen Gelatine aus Liebigs Fleischextrakt. Ein fester Nährboden hat vor einem flüssigen den Vorteil, daß man durch Feststellen der Menge der überlebenden bzw. der auswachsenden Bakterien feinere Unterschiede in der Wirkung der Desinfektionsmittel konstatieren kann. Die Möglichkeit, daß ein fester Nährboden vielleicht die Entwicklung eines Keimes verhinderte, der sich in Bouillon noch hätte vermehren können, kam für die vorliegenden Versuche nicht in Betracht, da es bei ihnen durchaus nicht auf absolute Zahlen, sondern nur auf relative Werte ankam, und die traten bei dieser Methode immer noch deutlicher hervor als beim Gebrauch eines flüssigen Nährbodens, wo wenige Keime denselben Effekt hervorrufen können wie viele.

Es bestand die Wahl zwischen Agar und Gelatine, d. h. wohl im wesentlichen zwischen Wachstum bei 37° oder bei 22°. Das von mir benutzte Bact. coli wuchs, wenn es nicht geschädigt war, in Agar und Gelatine gleich gut. Das beweist der hier angeführte Versuch, bei dem von vier verschiedenen Verdünnungen einer Bakterienaufschwemmung je 1 Öse in Agar und in Gelatine gebracht wurde.

Agar			Gelatine	
1. Verdünnung		=	1. Verdünnung	
2. ,,		=	2. ,,	
3. ,,		=	3. ,,	
4. ,,	150 K.	=	4. ,,	200 K.

Wurden aber die Bakterien einer desinfizierenden Lösung zugesetzt, so kamen doch Unterschiede zwischen dem Wachstum in Agar und in Gelatine zum Vorschein.

12 ccm n/10 Phenol.

	Agar	Gelatine
5 Minuten	stark vermindert	sehr stark vermindert
10 ,,	10 K.	9 K.
20 ,,	2	0
40 ,,	0	0
60 ,,	0	0
120 ,,	0	0

Es stand also fest, daß das Wachstum der geschädigten Bakterien in Gelatine beeinträchtigt war, das der nicht geschädigten nicht. Da nun wiederholt in einer Reihe stark, schwach und gar nicht geschädigte Bakterien nebeneinander beobachtet wurden,



konnte also deren Verhältnis bei Gebrauch von Gelatine anders erscheinen, als es bei Gebrauch optimaler Nährböden gewesen wäre, indessen doch nur immer in dem Sinne, daß so wie so bestehende Schädigungen verstärkt zum Ausdruck kamen. Das konnte für die vorliegenden Untersuchungen höchstens günstig sein. Sehr wesentlich waren auch die Unterschiede nicht. Ein mit Agar angesetzter Versuch zeigte denselben Kurvenverlauf wie die übrigen. Es bestand also kein Grund, auf die Anwendung der Gelatine zu verzichten, zumal sie doch verschiedene praktische Vorteile bot, z. B. die Möglichkeit größerer Versuchsreihen, da man mit dem Schräglegen der Gelatine einige Minuten warten konnte, während das beim Agar nicht anging; ferner eine gleichmäßigere Entwicklung der Kolonien auf dem ganzen Röhrchen, wohingegen bei Agar im Bereich des Kondenswassers ein diffuses Wachstum erfolgt; leichtere Bereitungsweise der Gelatine und ähnliches mehr.

Es wäre nun noch die Möglichkeit einer Entwicklungshemmung bei dieser Versuchsanordnung zu besprechen. Diese ist auszuschließen. Zunächst vergegenwärtige man sich die Mengenverhältnisse. In 8^{ccm} Gelatine wurde eine große Platinöse voll von der Lösung gebracht. Das Gewicht einer Wasserfüllung dieser Öse betrug etwa 7^{mg}. Die Konzentration der angewandten Lösungen lag gewöhnlich unter 1 Prozent; selten wurde diese Konzentration überschritten, aber nur bei Stoffen, die auch dann überhaupt kaum eine Desinfektionswirkung ausüben. Nimmt man nun den ungünstigen Fall an, daß man eine 1 prozentige Lösung benutzt und davon eine Öse voll in Gelatine bringt, dann würden sich in der Gelatine $0{\cdot}00007^{grm}$ der Substanz befinden. Das ergibt in 8^{ccm} etwa eine Konzentration von $^1/_{1000}$ Prozent. Wenn es sich um Stoffe wie Lauge, Säure oder auch Phenol handelte, war das vollkommen gleichgültig. Allenfalls wäre bei Anilinfarbstoffen, mit denen ich ebenfalls gearbeitet habe[1], eine solche Wirkung zu erwarten gewesen. Für diese ist Entwicklungshemmnng schon wiederholt festgestellt worden. So konstatierten v. Drigalski und Conradi[2], daß auf verschiedene Stuhlbakterien Methylenblau und Kristallviolett, in Verdünnungen von 1:100000 dem Nährboden zugesetzt, noch hemmend wirkten. Bacterium coli wird aber, wie die tägliche Erfahrung mit dem Drigalskiagar lehrt, durch diese Zusätze nicht im mindesten gehemmt. Auch durch den direkten Versuch habe ich mich überzeugt, daß die von mir angewandten Farbstoffe in den in Betracht kommenden Konzentrationen keine Entwicklungshemmung verursachten.

[1] Die Versuche werden erst in einem zweiten Teil dieser Arbeit veröffentlicht.
[2] v. Drigalski u. Conradi, *Diese Zeitschrift*. 1902. Bd. XXXIX.



Eine andere Frage ist die, ob nicht vielleicht auch hier die ungeschädigten Bakterien den Zusatz zum Nährboden vertragen, die geschädigten aber in der Entwicklung gehemmt werden. Darauf, daß derartige Unterschiede bestehen, haben z. B. Schneider und Seligmann[1] hingewiesen. Wenn nun folgendes Resultat vorhanden war:

	12^{ccm} n/80 KOH	10^{ccm} n/80 KOH 2^{ccm} n/80 Seife	12^{ccm} n/80 Seife
20 Minuten	sehr stark vermindert	0	reichlich

dann konnte man eventuell behaupten, daß die Seife an sich die Bakterien nicht geschädigt, und auch die eine Öse Seifenlösung im Nährboden die ungeschädigten Bakterien nicht gehemmt hätte, daß aber die durch die Kalilauge schwer geschädigten Bakterien durch die Seife in ihrer Entwicklung in der Gelatine verhindert worden wären. So wäre also nur eine Verstärkung der Desinfektionswirkung vorgetäuscht, während es sich in Wirklichkeit um eine Entwicklungshemmung der Bakterien gehandelt hätte.

Dagegen sprechen aber verschiedene Tatsachen.

Erstens war bei den Mischungen dieser hemmenden Stoffe mit anderen Desinfektionsmitteln die Konzentration der ersteren doch noch um ihr Mehrfaches herabgesetzt, in dem vorliegenden Falle z. B. um das Sechsfache, also waren auch die Konzentrationen in der Gelatine noch bedeutend niedriger, als vorher berechnet war.

Zweitens sprach dagegen, daß nicht unvermittelt derartige, steril gebliebene Gelatineröhrchen in der Versuchsreihe standen, sondern die Ergebnisse waren nach Einwirkungszeit und Konzentration regelmäßig abgestuft.

Entscheidend ist folgender Versuch: Wenn in einer Reihe, wo ein stark desinfizierend wirkendes, nicht hemmendes Mittel gegen ein schwach wirkendes, aber vielleicht hemmendes ersetzt wurde, in die Gelatineröhrchen, die mit einer Öse voll Bakterien aus der am stärksten wirkenden Lösung beimpft waren, noch 1 Öse voll des entwicklungshemmenden Mittels gebracht wurde, und zugleich auch Röhrchen ohne diesen Zusatz angelegt wurden, so war das Wachstum in beiden Röhrchen gleich stark. Wäre die Annahme richtig, daß die durch das eine Mittel geschädigten Bakterien in ihrem Wachstum durch das andere verhindert würden, so hätte das hier unbedingt zum Vorschein kommen müssen. Denn hier waren die ungünstigsten Bedingungen gegeben: erstens stärkste

[1] Schneider u. Seligmann, *Diese Zeitschrift.* 1908. Bd. LVIII. S. 429.



Schädigung durch das starke Desinfektionsmittel und zweitens größte Menge an entwicklungshemmendem Mittel in der Gelatine.

Außerdem wurden wiederholt bei Versuchen, in denen ein entwicklungshemmendes Mittel zur Anwendung kam, nach Ablauf der 2 Stunden Versuchszeit, wenn also die Bakterien am stärksten geschädigt waren, außer den sonst angelegten Röhrchen noch solche angelegt, in die zugleich eine Öse voll der stärksten im Versuche angewandten Konzentration des Mittels gebracht wurde. Wenn dieses Mittel in der Gelatine noch schädigend gewirkt hätte, hätte diese Öse voll unbedingt eine Verminderung des Wachstums in den Röhrchen hervorrufen müssen. Das traf aber nicht zu. Die Röhrchen waren gleich bewachsen.

Es läßt sich demnach mit Sicherheit sagen, daß die in den vorliegenden Versuchen beobachteten Wirkungen nicht auf eine Entwicklungshemmung zurückzuführen sind.

Theoretisches.

Wenn man zwei Desinfektionsmittel gemeinschaftlich auf Bakterien einwirken läßt, so kann ihre gemeinsame Wirkung die Summe der Einzelwirkungen der beiden Komponenten erreichen, kann sie überragen oder kann hinter ihr zurückbleiben. Die Frage nach der Kombinationswirkung zweier Substanzen a und b läßt sich also folgendermaßen formulieren:

$$\text{Wirkung } (a+b) \gtrless \text{Wirkung } a + \text{Wirkung } b.$$

Dieser Frage können wir experimentell nicht näher treten. Ihre Lösung wäre nur dann möglich, wenn wir für die Desinfektionswirkung vergleichbare und addierbare zahlenmäßige Ausdrücke hätten. Diese fehlen uns hier aber ebenso wie bei anderen toxischen Wirkungen. Es sind zwar Methoden angegeben worden, die uns unter Umständen gestatten, die Wirkung eines Desinfektionsmittels in Zahlenwerten auszudrücken. So erhalten wir durch Berechnung der Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante[1] derartige Werte. Aber wenn wir auf diese Weise auch für a, b und $a+b$ drei einzelne Werte bekommen, können wir diese Werte doch nicht zueinander in Beziehung setzen, weil wir die Summe der Einzelwirkung von a und der von b zahlenmäßig nicht bilden können. Für das Verfahren von Rideal und Walker[2], das schon aus anderen Gründen nicht in Frage kommt, gilt dasselbe.

[1] Paul, Birstein u. Reuß, *Biochem. Zeitschrift.* 1910. Bd. XXV. S. 367.

[2] S. Rideal u. A. Walker, *Journ. of the Royal Sanitary Institute 24.* 1903. Vol. III. S. 424. Zit. nach Paul, Birstein u. Reuß. *Biochem. Zeitschr.* Bd. XXIX.



Scheinbar kann man alle Schwierigkeiten umgehen, wenn man die beiden Substanzen nicht in ganzer, sondern in halber Menge miteinander kombiniert, wenn man also nicht die Wirkung von $(a + b)$, sondern von $\left(\frac{a}{2} + \frac{b}{2}\right)$ prüft. Man vergleicht dann die Wirkung der Kombination nicht mit der Summe der Einzelwirkungen, sondern mit jeder der beiden Einzelwirkungen für sich. Henle[1] war der erste, der diesen Weg beschritten hat. Einen quantitativen Ausbau dieser Methode hat Zehl[2] unternommmen, der Kombinationsversuche über entwicklungshemmende Eigenschaften von Giften auf Schimmelpilzsporen angestellt hat. Henle faßt bei seiner Darstellung folgende drei Möglichkeiten ins Auge:

1. Die Wirkung von $\left(\frac{a}{2} + \frac{b}{2}\right)$ rangiert ihrer Stärke nach zwischen der Wirkung von a und der von b.

2. Sie überragt sowohl a wie b oder wenigstens das eine, ohne dabei schwächer zu wirken als das andere.

3. Sie bleibt sowohl hinter a wie hinter b zurück oder hinter dem einen, ohne dabei stärker zu sein als das andere.

Diese Methodik hat mehrere Mängel. Wenn man derartige Versuche anstellt, so beobachtet man häufig bei der Kombination der halben Mengen, die von Henle einzig und allein geprüft wurde, keine Verstärkungswirkung, die doch bei anderen Mischungsverhältnissen — sagen wir: $\frac{a}{4} + \frac{3}{4}b$ usw. — zum Ausdruck kommen kann.

Aus diesem Grunde habe ich nach dem Vorgange von Reichenbach die ursprüngliche Henlesche Versuchsanordnung dahin erweitert, daß ich nicht nur die Hälften der beiden Substanzen miteinander kombiniert, sondern, allmählich nach Sechsteln fortschreitend, die eine Substanz durch die andere ersetzt habe. Man erhält dann folgendes Schema:

$$a, \quad \frac{5}{6}a + \frac{1}{6}b, \quad \frac{4}{6}a + \frac{2}{6}b, \quad \frac{3}{6}a + \frac{3}{6}b, \quad \frac{2}{6}a + \frac{4}{6}b, \quad \frac{1}{6}a + \frac{5}{6}b, \quad b.$$

Es waren also immer sieben Kombinationen zu prüfen.

Die Beurteilung eines solchen Versuches ist in den meisten Fällen einfach und sicher. Sie läßt sich am besten verstehen, wenn man die zu erwartenden Resultate graphisch darstellt. Gehen wir zunächst von der Voraussetzung aus, daß die Mittel a und b in gleich wirksamen Konzentrationen angewandt werden, und tragen wir die Desinfektionswerte, welche die Substanz a allein liefern würde, in ein rechtwinkliges Koordinatensystem ein, so erhalten wir das in Fig. 1 wiedergegebene Bild:

[1] A. a. O.

[2] Zehl, Die Beeinflussung der Giftwirkung durch die Temperatur sowie durch das Zusammengreifen von zwei Giften. *Philos. Inaug.-Diss.* Leipzig 1907/1908.



die Wirkung, die durch die ausgezogene Linie dargestellt ist, fällt gradlinig von 6 Sechsteln *a* bis *B*. Tragen wir nun auch die Wirkung von *b* in dasselbe System ein, so erhalten wir die gestrichelte Kurve, die das Spiegelbild der *a*-Kurve darstellt. Die kombinierte Wirkung der beiden Mittel erhalten wir, wenn wir die Ordinatenhöhe addieren, und eine einfache geometrische Überlegung ergibt, daß die Resultante eine Gerade werden muß, die mit der Verbindungslinie der oberen Punkte der *a*- und *b*-Ordinaten zusammenfällt.

Oder mit anderen Worten: wenn bei der Kombination von zwei Desinfektionsmitteln eine einfache Addition der Wirkungen stattfindet, so müssen bei unserer Versuchsanordnung sämtliche Einzelversuche dasselbe Resultat liefern, die Desinfektionswirkung muß bei sämtlichen Kombinationen dieselbe sein, wie bei den Ausgangssubstanzen allein. Umgekehrt ist, wenn die Desinfektionswirkung einzelner Kombinationen von derjenigen von *a* und *b* abweicht, damit der Beweis geliefert, daß durch die Kombinierung eine Verstärkung bzw. eine Abschwächung stattgefunden hat. Die resultierende Ordinate ist dann nicht mehr gleich der Summe der Einzelordinaten und die Verbindungslinie von *C* und *D* wird eine gekrümmte Linie (Figg. 2 und 3).

Wie man sieht, ist bei dieser Versuchsanordnung ein zahlenmäßiger Ausdruck für die Desinfektionswirkung nicht nötig, es genügt, die einzelnen Wirkungen miteinander zu vergleichen und etwaige Abweichungen festzustellen.

Etwas komplizierter, aber praktisch noch durchaus anwendbar ist das Verfahren, wenn die beiden Stoffe *a* und *b* nicht in gleich wirksamen Konzentrationen angewandt werden. Nehmen wir an, *a* wäre wirksamer, so erhalten wir bei einfacher Addition das Bild der Fig. 4. Die Verbindungslinie von *C* und *D* ist eine Gerade, die Wirksamkeit der Mischungen ist aber nicht mehr unter sich gleich, sondern nimmt von *C* und *D* gleichmäßig ab.

Ob das im Versuche der Fall ist, läßt sich ebenfalls leicht entscheiden: die Wirkung jeder Kombination muß zwischen der vorhergehenden und der der nachfolgenden liegen. Wenn das nicht der Fall ist, wenn eine oder mehrere Kombinationswirkungen aus der regelmäßigen Reihe nach oben oder unten herausfallen, und wenn insbesondere eine Kombination stärker wirkt als *a* oder schwächer als *b*, dann haben wir sicher eine Verstärkung oder eine Abschwächung vor uns. Wir können uns dann durch Vergleich mit den Ausgangswerten *a* und *b* auch ohne zahlenmäßige Werte ein Bild von der Gestalt der Kurve konstruieren, das zwar keine absoluten Werte gibt, das uns aber die grundlegenden Eigenschaften der Kurve vor Augen führt. Fig. 5 würde dem Bilde einer Verstärkungswirkung, Fig. 6 einer Abschwächungswirkung entsprechen.



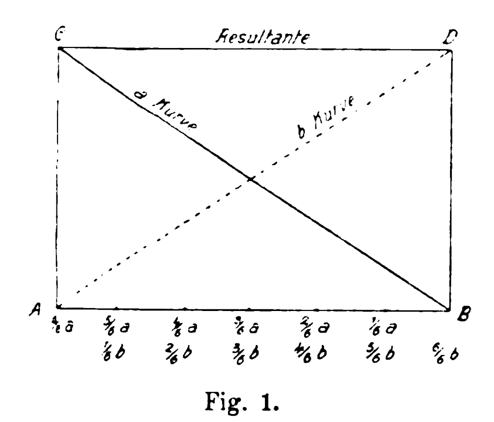


Fig. 1.

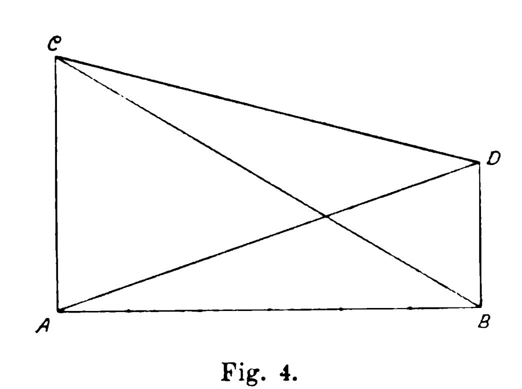


Fig. 4.

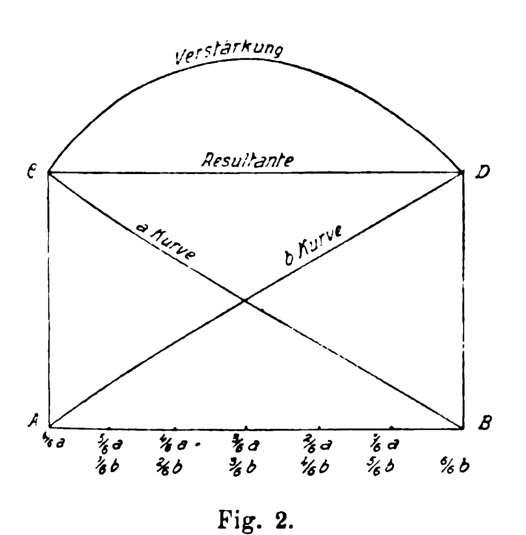


Fig. 2.

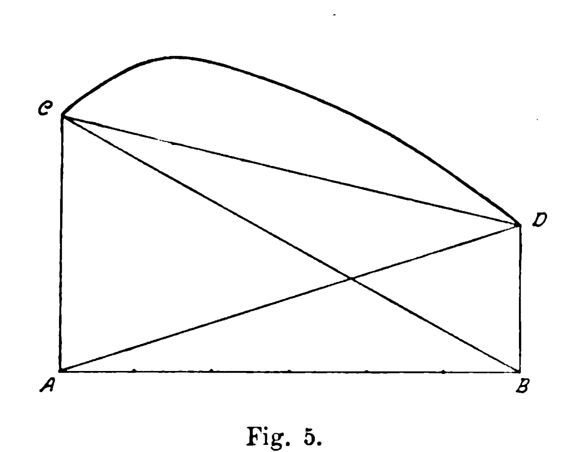


Fig. 5.

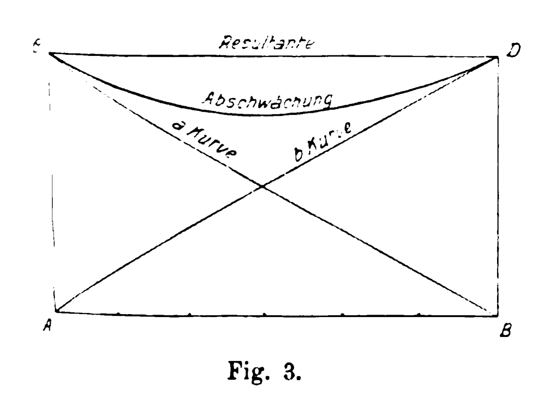


Fig. 3.

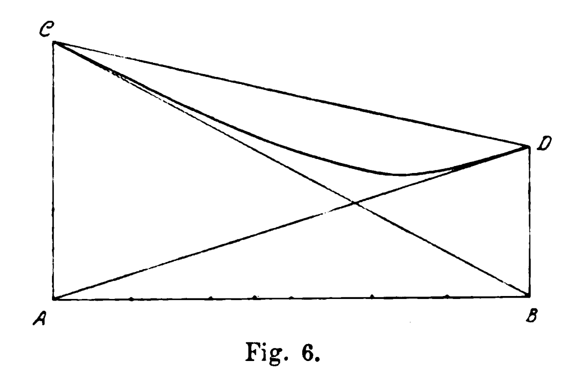


Fig. 6.

Allerdings muß zugegeben werden, daß auf diese Weise sehr schwache Verstärkungs- oder Abschwächungswirkungen der Beobachtung entgehen können. Es wäre nämlich möglich, daß die Verstärkung so schwach wäre, daß sie nicht eine Kurve mit einem deutlichen Umkehrpunkt hervorriefe. Auch in diesem Falle würden alle Werte zwischen *a* und *b* liegen, es würde keiner aus der Reihe herausfallen, sondern es würde von *a* nach *b* gerechnet jeder kleiner sein als der vorhergehende. Der Abfall würde aber nicht in einer geraden, sondern in einer gekrümmten Linie erfolgen, die bei einer Verstärkung konkav, bei einer Abschwächung konvex gegen die Abszissenachse verliefe. Fig. 7 gibt die beiden Kurven wieder.

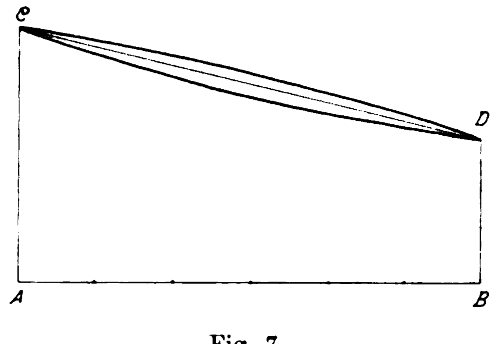


Fig. 7.

Ob tatsächlich eine solche Kurvenform oder eine gerade Linie vorliegt, ist natürlich, besonders wenn die Abweichungen vom linearen Abfall klein sind, ohne absolute Zahlen für den Wirkungswert nicht mit Sicherheit festzustellen, und es können deshalb kleine Verstärkungen oder Abschwächungen der Beobachtung entgehen. Praktisch kommt das aber kaum in Betracht, wenn man nur dafür Sorge trägt, daß die Werte von *a* und *b* nicht allzu verschieden sind.

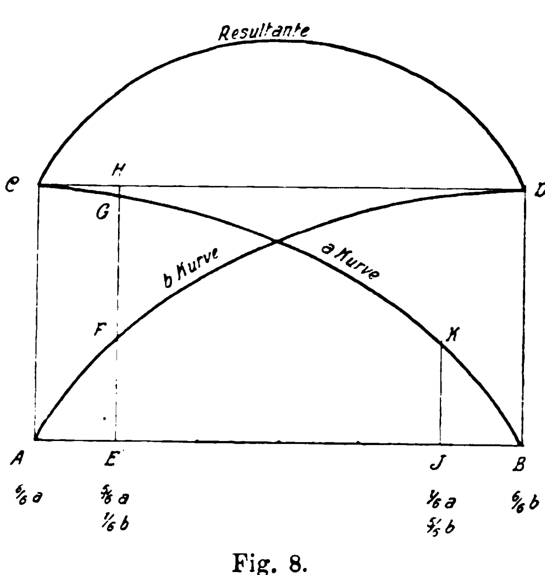


Fig. 8.

Bis soweit wäre nun die Sache sehr einfach. Wir sind aber bisher von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Wirkung der Desinfektionsmittel *a* und *b* innerhalb der angewandten Versuchsgrenzen ihrer Konzentration direkt proportional sei, daß also ihre Wirksamkeitskurven, wie wir sie einmal nennen wollen (s. Fig. 1), gerade Linien seien. Nur unter dieser Voraussetzung ist auch die Resultante eine Gerade.

Diese Voraussetzung trifft aber nicht immer zu.[1]

Wir wollen einmal als Beispiel den Fall betrachten, daß die Wirkung mit der Konzentration in einer zur Abszissenachse konkaven Kurve, also mit zunehmender Geschwindigkeit, und zwar bei beiden Mitteln in gleicher Weise, abnähme. Dann ist die Resultante eine ebenfalls gegen die Abszissenachse konkave Linie, deren sämtliche Punkte über der Verbindungslinie *CD* gelegen sind (s. Fig. 8). Es würde danach bei allen Kombinationen eine Verstärkung stattfinden: sie würden sämtlich stärker werden, als die Ausgangssubstanzen. In Wirklichkeit wäre natürlich diese scheinbare Verstärkung nur eine Addition der Einzelwirkungen und würde nur wegen der Form der Wirkungskurven als Verstärkung erscheinen.[2]

Daß aber diese einfache mathematische Betrachtung nicht ohne Einschränkung zulässig ist, sieht man ohne weiteres, wenn man statt der verschiedenen Substanzen *a* und *b* gleichstarke Konzentrationen desselben Mittels verwendet. Denn dann würde sich das paradoxe Resultat ergeben, daß man die Desinfektionswirkung einer Lösung durch Wegnehmen und nachheriges Wiederhinzufügen eines beliebigen Quantums derselben Lösung beeinflussen könnte.

Natürlich ist dieser Widerspruch nur scheinbar, die Erklärung liegt eben in dem Verlauf der Kurve und zwar in folgender Weise. Vermindere ich die Konzentration des Mittels *a* um ein Sechstel, so sinkt die Wirkung um die Ordinatenhöhe *GH*. Untersuche ich aber die Konzentration ein Sechstel für sich, so erhalte ich die Wirkung *JK*, die viel größer ist. Wenn ich aber das fortgenommene Sechstel wieder hinzufüge, so wird dadurch die Wirkung natürlich nicht um *KJ*, sondern nur um das Stück *GH* gesteigert.

Es fragt sich aber nun, wie sich die Sache verhält, wenn ich statt des fortgenommenen Sechstels nicht wieder ein Sechstel desselben Mittels, sondern ein Sechstel des ebenso stark wirkenden Mittels *b* hinzufüge. Übt dann *b* nur dieselbe Wirkung aus wie *a*, d. h. erhöht es die Wirnur um das Stück *GH*, oder addiert es sich mit seiner ganzen Desinfektionskraft *EF* zu der Wirkung von *a*? Beides wäre offenbar möglich, und welche von beiden Möglichkeiten eintritt, ist theoretisch gar nicht zu bestimmen, sondern muß durch das Experiment entschieden werden.

---

[1] Siehe auch Paul, Birstein u. Reuß, *Biochem. Zeitschrift.* 1910. Bd. XXIX. S. 247.

[2] Verlaufen die beiden Wirkungskurven zur Abszissenachse konvex, so wird natürlich auch die Resultante konvex, und das Resultat wäre eine scheinbare Abschwächung. Die folgenden Überlegungen gelten für diesen Fall in gleicher Weise.



Es wird zweckmäßig sein, wenn wir für diese beiden Möglichkeiten besondere Ausdrücke einführen. Wir wollen den ersten Fall als Isoaddition, den zweiten als Heteroaddition bezeichnen. Unter Isoaddition verstehen wir danach den Fall, daß in einer Desinfektionslösung ein beliebiger Teil des einen Mittels durch eine gleich wirksame Menge eines anderen Mittels ersetzt werden kann, ohne daß dadurch die Wirksamkeit der Lösung geändert wird. Unter Heteroaddition ist dagegen der Fall zu verstehen, daß sich die Eigenwirkung beider Mittel numerisch addiert. Iso- und Heteroaddition fallen zusammen, wenn die Wirkungskurven bei beiden Substanzen gerade Linien sind.

Eine Isoaddition ist natürlich von vornherein nur dann möglich, wenn die Wirkungskurven der beiden Substanzen gleich verlaufen. Sie ist bei unserer Versuchsanordnung dadurch charakterisiert und leicht zu erkennen, daß sämtliche Kombinationen dasselbe Resultat liefern, wie die Ausgangssubstanzen oder, wenn die Ausgangskonzentrationen nicht von gleicher Wirkung sind, in einer regelmäßigen Reihe vom stärkeren zum schwächeren Mittel an Wirkung abnehmen.

Schwierigkeiten könnte dagegen die Unterscheidung von Heteroaddition und Verstärkung bzw. Abschwächung machen. Denn hier kann die Gestalt der entstehenden Kurven die gleiche werden, und in diesem Falle müßten die quantitativen Verhältnisse den Ausschlag geben. Damit wären wir aber wieder vor das im Eingang als unlöslich erklärte Problem gestellt, die Summe zweier Einzelwirkungen mit der Gesamtwirkung zu vergleichen. Daß bei meinen Untersuchungen sich meist hieraus keine praktischen Schwierigkeiten ergeben haben, liegt daran, daß die im Versuch gefundenen Kurven auch in ihrer Gestalt so weit von der rein geometrischen Resultante der Einzelkurven abwichen, daß über ihre Deutung gar kein Zweifel entstehen konnte.

Statt dieser eben besprochenen und kritisierten Versuchsanordnung, die wir als Ersetzungsversuch bezeichnen wollen, läßt sich nun häufig ein viel einfacheres Verfahren anwenden, und zwar dann, wenn eines der beiden Mittel gar nicht oder doch nur so schwach wirksam ist, daß seine Eigenwirkung die Deutung des Versuches nicht stören kann. In diesem Falle kann man das unwirksame Mittel einfach in steigenden Mengen zu dem wirksamen hinzufügen: wenn dann eine erhebliche Erhöhung der Wirksamkeit entsteht, so ist damit der Beweis der Verstärkung geliefert. Diese Versuchsanordnung wollen wir als Additionsversuch bezeichnen.



Kombinationen von Substanzen, die chemisch oder physikalisch-chemisch in der Lösung aufeinander einwirken.

Wenn man zwei Substanzen miteinander kombiniert, so können diese Substanzen entweder unverändert nebeneinander bestehen bleiben oder aufeinander einwirken. Die Einwirkung zweier Substanzen aufeinander kann entweder in chemischen Umsetzungen bestehen, oder es können die physikalisch-chemischen Bedingungen verändert werden, z. B. der Dissoziationsgrad oder die Oberflächenspannung.

Betrachten wir zuerst einmal den Fall, es entstände durch die Mischung zweier Substanzen ein neuer Körper. Dieser neue Körper wird dann am vollständigsten entstehen, wenn man äquivalente Mengen der beiden Substanzen zusammenbringt. Nimmt man von der einen Substanz mehr, so hat man neben dem neuen Körper noch einen Teil dieser Substanz im Gemisch. Man würde also, wenn man in verschiedenen Mengenverhältnissen die Substanzen mischte, — unter der Voraussetzung, daß die äquivalenten Mengen vollständig miteinander reagieren — folgende Reihe erhalten:

Körper *a* — Körper *a* + neuer Körper — neuer Körper — neuer Körper + Körper *b* — Körper *b*.

Wenn man diese verschiedenen Mischungsverhältnisse auf Bakterien einwirken ließe und die Wirkungen in einer Kurve aufzeichnete, so könnte man eventuell an der Stelle, wo die äquivalenten Mengen zusammentreffen, einen markanten Punkt der Kurve finden, der sehr verschiedenartig sein kann.

Gehen wir z. B. von der Voraussetzung aus, der neue Körper schädige Bakterien stärker als der alte, so wird ein Maximum der Kurve den Punkt charakterisieren, wo der Körper am reichlichsten vorhanden ist, also den der äquivalenten Mengen.

Wirkt der neuentstandene Körper schwächer als die vorhandenen, so wird diese Stelle als Minimum gekennzeichnet sein.

Man könnte sogar gelegentlich aus der Gestaltung der Kurve einen Schluß auf die Vorgänge im Desinfektionsgemisch ziehen. Wenn man an der Stelle der äquivalenten Mengen einen charakteristischen Punkt der Kurve findet, so muß man mit der Möglichkeit rechnen, daß chemische Umsetzungen am Desinfektionsvorgang beteiligt sind. Bei den Schwierigkeiten, die es mitunter bereitet, bei einer Kombination von Substanzen unter den vielen Vorgängen, die für die Gestaltung des Desinfektionseffektes in Betracht kommen, den entscheidenden herauszufinden, kann ein derartiger Hinweis von großem Werte sein.

Tabelle I.

$^1/_{80}$ normale Kalilauge + $^1/_{80}$ normale Salzsäure.

Min.	12 ccm KOH	10 ccm KOH + 2 ccm HCl	8 ccm KOH + 4 ccm HCl	6 ccm KOH + 6 ccm HCl	4 ccm KOH + 8 ccm HCl	2 ccm KOH + 10 ccm HCl	12 ccm HCl
5	deutlich vermindert	reichlich	reichlich	reichlich	Spur vermindert	deutlich bis stark vermindert	stark vermindert
10	deutlich bis stark vermindert	Spur vermindert	,,	,,	deutlich vermindert	300	22
20	stark vermindert	vermindert	,,	,,	450	3	0
40	180	deutlich vermindert	,,	,,	8	0	0
60	78	deutlich bis stark vermindert	,,	,,	0	0	0
120	2	stark vermindert	Spur vermindert	,,	0	0	0

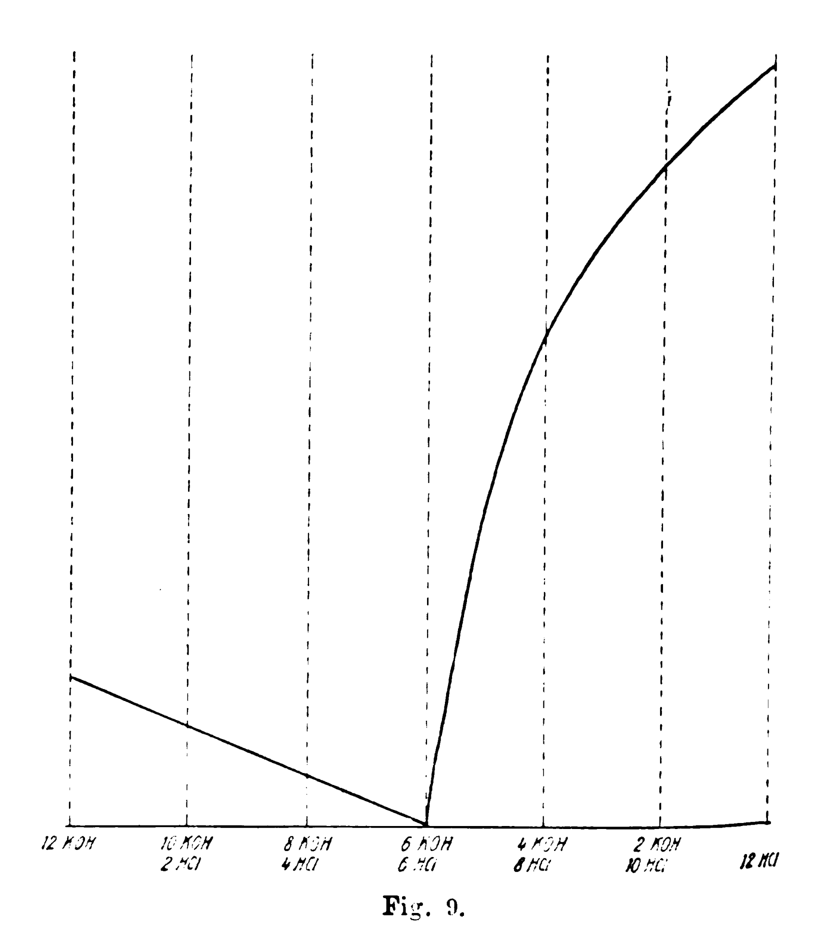


Fig. 9.



Als einfachsten Fall der Kombination zweier chemisch reagierender Desinfektionsmittel wollen wir das Verhalten von Säure und Lauge, und zwar von Salzsäure und Kalilauge, betrachten. Da die wirksamen Bestandteile der Kalilauge die Hydroxylionen und die der Salzsäure nach Krönig und Paul[1] die Wasserstoffionen sind, wird man eine Verminderung der Desinfektionswirkung bis zu einer Aufhebung durch Kombination beider Stoffe erwarten. In einem Vorversuche wurde wie gewöhnlich zunächst die geeignete Konzentration festgestellt. Daraufhin wurden die Substanzen in n/80-Lösungen miteinander kombiniert (Tab. I). Die Kurve dieses Versuches zeigt, daß man durch Mischung der beiden Stoffe eine Verminderung der Wirkung, die an der Stelle der äquivalenten Mengen gleich null ist, erhält. Nebenbei sieht man daraus, daß die Säure bedeutend stärker wirkt als die Lauge von gleicher Normalität, was schon Krönig und Paul bei der Wirkung verschiedener starker Säuren und Basen auf Staphylokokken festgestellt hatten.

Bei der Säurewirkung fällt ferner der langsame Abfall der Wirkung mit Abnahme der Konzentration auf. Dieses Verhalten zeigt ja die Salzsäure auch bei anderen Versuchen (Nr. 8), indessen nicht in diesem Grade. Bei dem Mischungsverhältnis 4^{ccm} KOH n/80 + 8^{ccm} HCl = 12^{ccm} (HCl n/240 + NaCl n/240) war bereits nach 60 Minuten Abtötung aller Keime erfolgt. Da sonst Salzsäurelösungen dieser Konzentration eine derartig starke Wirkung nicht ausübten, und auch kein Grund zu der Annahme bestand, daß die Bakterien bei diesem Versuch besonders hinfällig gewesen sein sollten — sie zeigten der Kalilauge gegenüber keine ungewöhnliche Hinfälligkeit — so liegt die Vermutung nahe, daß das durch Zusammentreten von KOH und HCl gebildete KCl trotz eigener Unwirksamkeit die Salzsäurewirkung verstärkt hat, eine Vermutung, die durch die Angaben von Lockemann und Lucius[2] und von Gegenbaur und Reichel[3] über die Wirkung von Salzsäure und Kochsalz — allerdings bei Anwendung größerer Kochsalzmengen — eine Stütze findet. Indessen habe ich nähere Untersuchungen darüber nicht angestellt.

Als weiteres Beispiel für eine Verminderung der Wirkung bei Kombination zweier Desinfektionsmittel ist das Verhalten von Phenol und Lauge bekannt. Bei Mischung dieser beiden Stoffe entsteht Phenolnatrium bzw. Phenolkalium. Auf die geringe Desinfektionskraft desselben gegenüber dem einen der beiden Ausgangskörper, dem Phenol, hat schon Koch[4] hingewiesen. Das Ergebnis der Desinfektionswirkung derartiger Phenol-Laugengemische ist in Tabelle II wiedergegeben.

[1] Krönig u. Paul, *Diese Zeitschrift*. 1897. Bd. XXV. S. 1.

[2] Lockemann u. Lucius, *Desinfektion*. 1912. Jahrg. V. S. 266.

[3] Gegenbaur u. Reichel, *Archiv f. Hygiene*. 1913. Bd. LXXVIII. S. 18.

[4] Koch, a. a. O.

Tabelle II.

Kalilauge + Phenol ($^1/_5$ normale Lösungen). Gesamtflüssigkeitsmenge 12 ccm.

Minuten	1 ccm Lauge	1 ccm Lauge + $^1/_{10}$ ccm Phenol	1 ccm Lauge + $^1/_2$ ccm Phenol	1 ccm Lauge + 1 ccm Phenol (äquivalente Mengen)	1 ccm Lauge + 2 ccm Phenol	1 ccm Lauge + 4 ccm Phenol	1 ccm Lauge + 6 ccm Phenol	1 ccm Phenol	4 ccm Phenol	[illegible]
5	stark vermindert	stark vermindert	deutlich vermind.	reichlich	reichlich	reichlich	deutlich vermindert	reichlich	reichlich	[illegible]
10	stark bis sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	stark vermindert	desgl.	desgl.	desgl.	stark bis sehr stark vermindert	desgl.	Spur vermindert	[illegible]
20	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	desgl.	„	„	„	sehr stark vermindert	„	vermindert	[illegible]
40	100	145	„	„	„	Spur vermindert	21	„	stark vermindert	[illegible]
60	87	119	„	„	„	vermindert	5	„	stark bis sehr stark vermindert	[illegible]
120	55	49	sehr stark vermindert	„	„	deutlich vermindert	0	„	68	[illegible]

Der Versuch — ein Additionsversuch — ist so angestellt, daß in eine Reihe verschiedener Gläschen je 1 ccm $^1/_5$ Normalkalilauge gebracht wurde und steigende Mengen von $^1/_5$ normaler Phenollösung und zwar 0, $^1/_{10}$, $^1/_2$, 1, 2, 4, 6 ccm. In drei weitere Gläschen kamen 1, 4 und 6 ccm Phenollösung ohne Kalilauge. In sämtlichen Gläschen wurde die Flüssigkeitsmenge mit destilliertem Wasser auf 12 ccm ergänzt.

Die Abnahme der Desinfektionswirkung durch Mischung von Kalilauge und Phenol war so stark, daß sie auch bei dieser Versuchsanordnung zum Vorschein kam. Es ergab sich aus dem Versuch, daß mit zunehmender Phenolkonzentration die Kalilaugenwirkung immer geringer wurde, bis sie an der Stelle, wo äquivalente Mengen — 1 ccm n/5 Kalilauge + 1 ccm n/5 Phenol — zusammentrafen, aufgehoben war. Bei noch stärkerem Phenolzusatz war in der Lösung ein Überschuß von Phenol vorhanden. Trotzdem war bei Zusatz von 2 ccm $^1/_5$ normalen Phenols die Desinfektionswirkung auch noch gleich null. Das kam daher, daß der Phenolüberschuß an 1 ccm $^1/_5$ Phenol zu klein war, um eine Desinfektionswirkung auszuüben, was man daran erkennen kann, daß 1 ccm $^1/_5$ Phenol ohne Kalilauge auch keine Wirkung ausübte. Bei stärkerem Phenolzusatz zur Kalilauge kam wieder eine Desinfektionswirkung zum Vorschein, blieb aber hinter der Wirkung des Phenols ohne Laugenzusatz zurück.



Es geht also aus dem Versuch hervor, daß sich Kalilauge und Phenol gegenseitig in ihrer Desinfektionswirkung abschwächten, und daß die Wirkung beim Zusammentreffen äquivalenter Mengen aufgehoben war.

Das sind zwei Beispiele dafür, daß durch Kombination zweier miteinander reagierender Substanzen die Desinfektionswirkung vermindert wird.

Den zweiten Fall, daß eine solche Kombination eine Erhöhung der Desinfektionswirkung hervorruft, experimentell zu bestätigen, gelang nicht. Den Angaben der Literatur nach tritt eine derartige Erhöhung bei der Mischung von Kresol und Schwefelsäure auf. Nach Schneider[1] entsteht dabei unter Selbsterwärmung des Gemisches auf 65 bis 70° Kresolsulfosäure und bei Mischung unter Kühlung der wirksamere Kresylschwefelsäurerester. Diese unter Kühlung bereitete Mischung fand C. Fränkel[2] wirksamer als die eine Ausgangssubstanz, die Schwefelsäure, und Schneider wirksamer als die andere Ausgangssubstanz, das Kresol. Dies gäbe ein Beispiel dafür, daß durch Kombination zweier Desinfektionsmittel, des Kresols und der Schwefelsäure, ein wirksamer Körper, die Kresylschwefelsäure, entstände.

Ein von mir angestellter Versuch verlief indes anders: das Gemisch war wirksamer als das Kresol, aber weniger wirksam als die Schwefelsäure.

Der Versuch ging folgendermaßen vor sich: Metakresol (Kahlbaum) und konzentrierte Schwefelsäure mit einem Gehalt an Schwefelsäure von 94·37 Prozent wurden unter Kühlung in Eiswasser in verschiedenen Mengenverhältnissen, unter anderen auch in äquivalenten Mengen ($10\cdot8^{grm}$ Kresol und $10\cdot384^{grm}$ der von mir benutzten Schwefelsäure = $9\cdot8^{grm}$ H_2SO_4), gemischt. Die drei Tage lang im Eisschrank aufbewahrten Mischungen sowie die reinen Ausgangsstoffe wurden in $^1/_4$, $^1/_6$ und $^1/_8$ prozentiger Lösung auf ihre Wirksamkeit gegenüber Bact. coli geprüft.

Es zeigte sich (Tabelle III), daß am wirksamsten die reine Schwefelsäure war, und daß ihr die Mischung, wo am wenigsten Kresol enthalten war, am nächsten kam. Die Wirkung der Mischung von äquivalenten Mengen stand schon erheblich hinter der Schwefelsäure zurück, überragte allerdings noch erheblicher die des Kresols. Wir haben also hier nicht das erwartete Beispiel dafür gefunden, daß durch Mischung zweier Substanzen ein neuer Körper entstehen kann, der die Ausgangskörper an Wirksamkeit übertrifft.

Eine Andeutung dieser Wirkung kann man aber möglicherweise in folgendem Verhalten sehen. Wenn es sich bei diesen Mischungen von weniger und mehr wirksamen Körpern um einfache Addition handelte, so

[1] Schneider, *Diese Zeitschrift.* 1906. Bd. LIII.

[2] C. Fränkel, a. a. O.

Tabelle III.

Metakresol + Schwefelsäure.

	Minuten	Kresol	5 Teile Kresol, 1 Teil H_2SO_4	5 Teile Kresol, 4 Teile H_2SO_4	Äquival. Mengen	4 Teile Kresol, 5 Teile H_2SO_4	1 Teil Kresol, 5 Teile H_2SO_4	H_2SO_4
1/4 proz. Lösung	5	vermindert bis deutlich vermindert	13	58	38	15	1	0
	10	desgl.	0	0	0	0	0	0
	20	stark vermindert	0	0	0	0	0	0
	40	450	0	0	0	0	0	0
	60	150	0	0	0	0	0	0
	120	23	0	0	0	0	0	0
1/6 proz. Lösung	5	reichlich	stark vermindert	stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	0	0
	10	„	2	2	6	0	0	0
	20	„	0	0	0	0	0	0
	40	„	0	0	0	0	0	0
1/8 proz. Lösung	5	reichlich	stark bis sehr stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich bis stark vermindert	stark vermindert	3	1
	10	„	15	85	48	26	0	0
	20	„	0	5	3	0	0	0
	40	„	0	0	0	0	0	0

müßte die Wirksamkeit der Gemische um so geringer werden, je mehr von dem weniger wirksamen Stoff darin enthalten ist. Das ist bei dem vorliegenden Versuche nicht der Fall; die Wirkung ist ungefähr die gleiche, ob man 5 Teile Kresol und 1 Teil Schwefelsäure oder äquivalente Mengen oder 4 Teile Kresol und 5 Teile Schwefelsäure mischt; ja vielleicht ist sie bei 5 Teilen Kresol und 1 Teil Schwefelsäure noch etwas stärker. Ein in dem eben beschriebenen Sinne gut verwertbares Ergebnis liegt indessen nicht vor.

Bisher war von den Fällen die Rede, wo die Veränderung der Wirksamkeit zweier Desinfektionsmittel durch Kombination auf neu auftretenden chemischen Verbindungen beruht. Mitunter verändert aber auch der Zusatz von einer Substanz zu einer anderen deren Desinfektionswert, indem er zwar keinen neuen Körper schafft, aber die physikalisch-chemischen Bedingungen anders gestaltet.

Eine Abschwächung der Desinfektionswirkung auf Grund derartiger Vorgänge sehen wir in dem Verhalten des Sublimats bei Kochsalzzusatz. Bekanntlich wird dadurch die Wirksamkeit des Sublimats herabgesetzt.



Zugleich wird der Dissoziationsgrad des Quecksilberchlorids verringert. Nach **Krönig** und **Paul** beruht die Wirksamkeit des Sublimats in der Hauptsache auf der des Quecksilberions, und daher kommt die Herabminderung der Wirksamkeit des Sublimats durch Kochsalzzusatz wahrscheinlich von einer Rückdrängung der Dissoziation her.

Hingegen tritt bei Kochsalzzusatz zu Phenol eine Verstärkung der Phenolwirkung auf, die **Scheurlen**[1] zuerst konstatiert hat. **Spiro** und **Bruns**[2] erklären diese Erscheinung so, daß auf der einen Seite Wasser, auf der anderen Bakterienleib dem Phenol als Lösungsmittel dienen, daß es sich nach einem bestimmten Verteilungsfaktor zwischen beiden Systemen verteilt, und daß durch Kochsalzzusatz dieser Verteilungsfaktor zugunsten des Bakterienleibes geändert wird. Den Grund dieser Verschiebung des Gleichgewichtes sehen **Spiro** und **Bruns** in der lyotropen Wirkung des Kochsalzes. Das Kochsalz ist ebenso wie andere Salze imstande, das Phenol aus seiner wässerigen Lösung zu fällen. Hierbei bestehen Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Salze. Die gleichen Unterschiede bestehen in dem Grad der Verstärkung der Desinfektionskraft des Phenols durch diese Salze. Daraus und aus anderem ziehen sie den Schluß, daß es sich bei der Aussalzung des Phenols und bei der Verstärkung seiner Desinfektionswirkung durch Salzzusatz um analoge Erscheinungen handelt. In neuerer Zeit kommt **Reichel**[3] auf Grund von Untersuchungen an Wasser einerseits, an Olivenöl, Cholesterin, Eiweiß und auch Bakterien andererseits zu dem Resultat, daß die Verteilung des Phenols zwischen Wasser und Bakterien dem **Henry**schen Verteilungssatze folgt, und daß sich mit steigendem Kochsalzgehalt das Teilungsverhältnis zugunsten der nicht wässerigen Phase verschiebt. Auf eigene Untersuchungen, die dafür sprechen, daß Adsorptionserscheinungen an dem Einflusse des Kochsalzes auf die Phenolwirkung beteiligt sind, wollen wir in einem demnächst erscheinenden zweiten Teile dieser Arbeit eingeben. Unsere Desinfektionsversuche bestätigen zunächst die bekannten Tatsachen.

Es wurden in eine Reihe Gläschen je 3 ccm n/3·5 Phenollösung gefüllt und immer 2 ccm Kochsalzlösung fallender Konzentration, anfangend mit 8 ccm 4fach normaler (= 2 ccm 16fach normaler), 4 ccm 4fach normaler (= 2 ccm 8fach normaler), 2 ccm 2fach normaler und weiter 1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$, $^1/_{64}$, $^1/_{128}$, $^1/_{256}$ normaler Lösung hinzugefügt. In ein letztes Gläschen kam Phenol ohne Kochsalzzusatz. In allen Gläschen wurde die Flüssigkeitsmenge durch destilliertes Wasser auf 12 ccm ergänzt.

---

[1] **Scheurlen**, *Archiv f. experiment. Pathologie u. Pharmakologie.* Bd. XXXVII.
[2] **Spiro** u. **Bruns**, *Ebenda.* Bd. XLI.
[3] **Reichel**, *Biochem. Zeitschrift.* 1909. Bd. XXII.



Diese Art von Versuchsanordnung — Additionsversuch — war angängig, weil die Eigenwirkung des Kochsalzes gleich 0 war, und daher für den Zusatz von Kochsalz kein Abzug an Phenol gemacht zu werden brauchte, um die wahre Wirkung der Kombination zum Vorschein zu bringen (s. S. 446).

Es zeigte sich (Tabelle IV), daß größere Mengen Kochsalz eine Verstärkung der Phenolwirkung hervorriefen. Ging man mit den Kochsalzmengen herunter, so kam ein Punkt, von dem an Kochsalzzusatz eine Abschwächung der Phenolwirkung herbeiführte. Diese Erscheinung kam in drei verschiedenen Versuchen immer wieder zum Vorschein; die Grenzen, innerhalb derer diese Abschwächung auftrat, differierten etwas bei den verschiedenen Versuchen. Die Wirkung trat aber immer etwa von der Konzentration an auf, die man als physiologisch (tier-physiologisch) bezeichnet und reichte von da herunter bis etwa zu einer Kochsalzkonzentration von 0·06 Prozent (2^{ccm} $^1/_{16}$ normal). Das Maximum der Abschwächung lag bei einem Kochsalzgehalt der Lösung von etwa 0·5 Prozent. Diesen Kochsalzgehalt hatte auch der Nähragar, auf dem die Bakterien gewachsen waren. Die Abschwächung hängt möglicherweise damit zusammen, daß diese Kochsalzkonzentrationen für die Bakterien ein besseres Medium bedeuten als destilliertes Wasser, vielleicht, weil sie sich darin unter günstigeren osmotischen Verhältnissen befinden. Jedenfalls ergab sich bei einem Versuche, daß eine Aufschwemmung von Bact. coli in 0·85 prozentiger Kochsalzlösung nach 18 Stunden bei der angewandten makroskopischen Betrachtung der Gelatineröhrchen nicht sichtlich an der Zahl abgenommen hatte, während die Zahl derselben Bakterienmenge, in Wasser aufgeschwemmt, deutlich vermindert war. Da andererseits bekannt ist, daß im günstigen Medium Bakterien durch die gleiche Schädigung weniger mitgenommen werden als im ungünstigen[1], könnte man also die Erscheinung so erklären, daß derartige Kochsalzlösungen als günstigeres Medium für die Bakterien die Widerstandskraft dieser gegenüber dem Phenol erhöhen.

Es wären also zwei verschiedene Wirkungsweisen des Kochsalzes vorhanden: erstens diejenige, durch die das Verteilungsverhältnis des Phenols zwischen Bacterium und Wasser zugunsten des Bacteriums verschoben wird, und zweitens, ihr entgegengesetzt wirkend, diejenige die das Wasser in ein besseres Medium für die Bakterien verwandelt. Ersteres bewirkt eine Verstärkung der Desinfektionswirkung, letzteres eine Abschwächung.

Die Versuchsergebnisse werden durch die abgebildete Kurve veranschaulicht, die zur besseren Darstellung nur einen Teil des ganzen Versuches herausgreift.

[1] Ficker, *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX. S. 41.



Tabelle IV.
(Additionsversuch.)

Phenol (3^{ccm} n/3·5) + NaCl (steigende Mengen). Gesamtflüssigkeitsmenge 12^{ccm}.

Minuten	Phenol	Phenol + 2^{ccm} n/128 NaCl = 0·0076 Proz. = n/768	Phenol + 2^{ccm} n/64 NaCl = 0·0151 Proz. = n/384	Phenol + 2^{ccm} n/32 NaCl = 0·0302 Proz. = n/192	Phenol + 2^{ccm} n/16 NaCl = 0·0605 Proz. = n/96	Phenol + 2^{ccm} n/8 NaCl = 0·121 Proz. = n/48	Phenol + 2^{ccm} n/4 NaCl = 0·242 Proz. = n/24	Phenol + 2^{ccm} n/2 NaCl = 0·484 Proz. = n/12	Phenol + 2^{ccm} 1 n. NaCl = 0·968 Proz. = n/6	Phenol + 2^{ccm} 2 n. NaCl = 1·936 Proz. = n/3	Phenol + 2^{ccm} 4 n. NaCl = 3·87 Proz. = $^2/_3$ n.	Phenol + 4^{ccm} 4 n. NaCl = 7·74 Proz = $^4/_3$ n.	Phenol + 8^{ccm} 4 n. NaCl = 15·482 Proz = $^8/_3$ n.
5	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	Spur vermindert	deutlich vermindert	sehr stark vermindert	0
10	Spur vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	„	„	„	vermindert	sehr stark vermindert	2	0
20	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	„	„	„	deutlich vermindert	200	0	0
40	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	stark vermindert	3	0	0
60	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	desgl.	desgl.	desgl.	sehr stark vermindert	0	0	0
120	2	4	2	6	40	46	190	253	200	0	0	0	0



Bei Zusatz von 2 ccm $^1/_{16}$ normaler Salzlösung = 0·06 Prozent Kochsalzgehalt beginnt bereits eine Verminderung der Phenolwirkung. Diese Verminderung ist am stärksten bei Zusatz von 2 ccm $^1/_2$ normaler Lösung = 0·484 Prozent Kochsalz. Zwischen einem Kochsalzgehalt von 2 ccm normal = 0·97 Prozent und 2 ccm zweimal normal = 1·94 Prozent heben sich die abschwächende und die verstärkende Wirkung auf, hier ist also die Wirkung der Mischung ebenso stark, wie die des Phenols ohne Zusatz. Bei noch stärkerem Kochsalzgehalt wird eine Verstärkung der Desinfektionswirkung des Phenols sichtbar; diese nimmt dann zu mit zunehmender Kochsalzkonzentration.

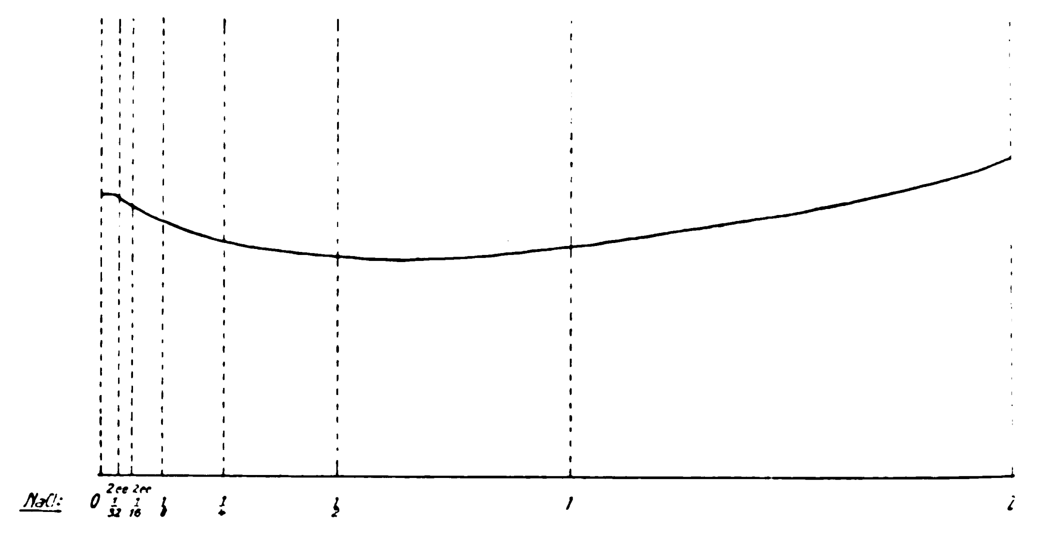


Fig. 10.

Kombinationen von Stoffen, die nicht aufeinander einwirken.

Wir wollen jetzt den Fall betrachten, daß zwei Substanzen miteinander gemischt werden, die sich gegenseitig nicht beeinflussen, deren Kombinationswirkung also auf ihrer gemeinsamen Einwirkung auf die Bakterienzelle beruht. Allerdings läßt sich diese Abgrenzung nicht immer mit aller Schärfe vornehmen, da beide Arten der Wirkung nebeneinander vorkommen können. Zum Teil ist auch eine sichere Entscheidung über die Art der Wirkung unmöglich.

Für die Beurteilung dieser Kombinationswirkungen müssen wir an die Ausführung auf S. 441 erinnern.

Wir haben zunächst die Kombinationswirkung einiger nahe verwandter Substanzen (und zwar zwei Phenole und zwei Alkohole) untersucht.

Es lag die Vermutung nahe, daß eine Iso-Addition der Wirkungen (s. S. 446) auftreten würde.

Der erste Versuch betraf Phenol und Metakresol. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß die Desinfektionswirkung einer n/15 Phenollösung



Tabelle V. Meta-Kresol. 12 ccm.

Minuten	n/20	n/40	n/50	n/60	n/80
5	0	vermindert	reichlich	reichlich	reichlich
10	0	deutlich bis stark vermindert	"	"	"
20	0	stark bis sehr stark vermindert	"	"	"
40	0	250	vermindert	"	"
60	0	42	deutlich vermindert	"	"
120	0	5	stark vermindert	"	"

Tabelle VI.

n/40 Meta-Kresol + n/15 Phenol.

Minuten	12 ccm Kresol	10 ccm Kresol + 2 ccm Phenol	8 ccm Kresol + 4 ccm Phenol	6 ccm Kresol + 6 ccm Phenol	4 ccm Kresol + 8 ccm Phenol	2 ccm Kresol + 10 ccm Phenol	12 ccm Phenol
5	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert
10	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert
20	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert
40	300	600	800	600	600	400	800
60	104	129	150	63	150	114	70
120	0	0	0	0	0	0	0

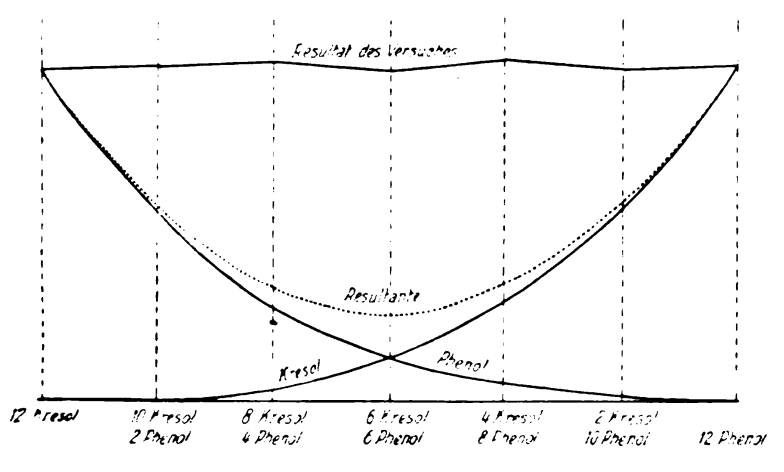


Fig. 11.

der einer n/40 Metakresollösung gleich ist. Daraufhin wurden die Lösungen in diesen Konzentrationen nach dem erweiterten Henleschen Schema miteinander kombiniert. Sämtliche Mischungsverhältnisse zeigten die gleiche Wirkung wie die Ausgangslösungen (s. Tabelle VI nebst Kurve). Die kleinen Differenzen in der Zahl der nach 40 und 60 Minuten noch überlebenden Bakterien sind bei der angewandten Methode selbstverständlich. Auch die Unregelmäßigkeit in den Schwankungen zeigt, daß hier nur Zufälligkeiten, keine Gesetzmäßigkeiten vorliegen. Die nach 5, 10 oder 20 Minuten abgeimpften Röhrchen waren einander so gleich, als ob sie aus ein und derselben Lösung angelegt worden wären. Eine Verstärkung der Wirkung hatte hier also zweifellos nicht stattgefunden. Es war nun die Frage, ob es sich um eine Iso-Addition in dem auf S. 446 erläuterten Sinne handelte. Dazu müssen wir die Form der Konzentrationskurven kennen. Die Kurve des Phenols verläuft konvex gegen die Abszissenachse, wie aus dem Versuch Nr. VIII hervorgeht, und ebenso, wie von vornherein anzunehmen war und durch einen besonderen Versuch bestätigt wurde, die Kurve des Kresols (s. Tabelle V). Als Resultante müßte also — vollständige Symmetrie der einzelnen Kurven vorausgesetzt — eine gegen die Abszisse konvexe Kurve mit einem deutlichen Umkehrpunkt in der Mitte herauskommen. Statt dessen hat sich im Versuch eine gerade Linie ergeben (s. Figur zu Tabelle VI). Es handelt sich hier also um einen typischen Fall von Iso-Addition: Ersetzen wir in einer Phenollösung einen Teil des Phenols durch eine gleich wirkende Menge von Kresol, so wird an der Wirkung der Lösung nichts geändert.

Ein ganz ähnliches Resultat lieferte die Kombination von zwei Alkoholen: Äthyl- und Methylalkohol. In diesem Versuche gelang es nicht, zwei gleich wirksame Konzentrationen der beiden Mittel anzuwenden. Als Kriterium der Additionswirkung ist deshalb zu verlangen, daß sich die Gemische in ihrer Wirksamkeit zwischen die beiden Ausgangslösungen einordnen, und zwar derart einordnen, daß eine Abnahme der Wirkung nach den Konzentrationen hin erfolgt, wo der schwächere Alkohol überwiegt. Dieses Verhalten können wir bei dem Versuch deutlich erkennen, wenn auch die Abstufung in der Wirksamkeit der einzelnen Gemische nicht völlig regelmäßig ist. Es geht also aus dem Versuch hervor, daß bei der Kombination von Äthyl- und Methylalkohol nicht eine Verstärkung der Wirkung, sondern eine Additionswirkung stattfindet. Da die Kurve des Äthylalkohols (s. Tabelle IX) ähnlich verläuft wie die des Phenols, und da bei der nahen Verwandtschaft vorausgesetzt werden kann, daß auch die des Methylalkohols ebenso verlaufen wird, ist also auch hier eine Iso-Addition anzunehmen.



Wir haben also das bemerkenswerte Resultat erhalten, daß zwei Paare von nahe verwandten chemischen Substanzen[1] Iso-Addition zeigen, d. h. daß beliebige Mengen der einen Substanz durch gleich wirksame Mengen der anderen ersetzt werden können, ohne daß sich die Wirkung ändert.

Tabelle VII.

Äthylalkohol (32 volumenprozentig) + Methylalkohol (46 volumenprozentig).

Minuten	12 ccm Äthyl-alkohol	10 ccm Äthyl-alkohol + 2 ccm Methyl-alkohol	8 ccm Äthyl-alkohol + 4 ccm Methyl-alkohol	6 ccm Äthyl-alkohol + 6 ccm Methyl-alkohol	4 ccm Äthyl-alkohol + 8 ccm Methyl-alkohol	2 ccm Äthyl-alkohol + 10 ccm Methyl-alkohol	12 ccm Methyl-alkohol
5	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert
10	71	stark bis sehr stark vermindert	stark vermindert	desgl.	desgl.	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert
20	22	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert
40	0	6	70	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert
60	0	0	6	100	160	142	200
120	0	0	0	0	0	0	0

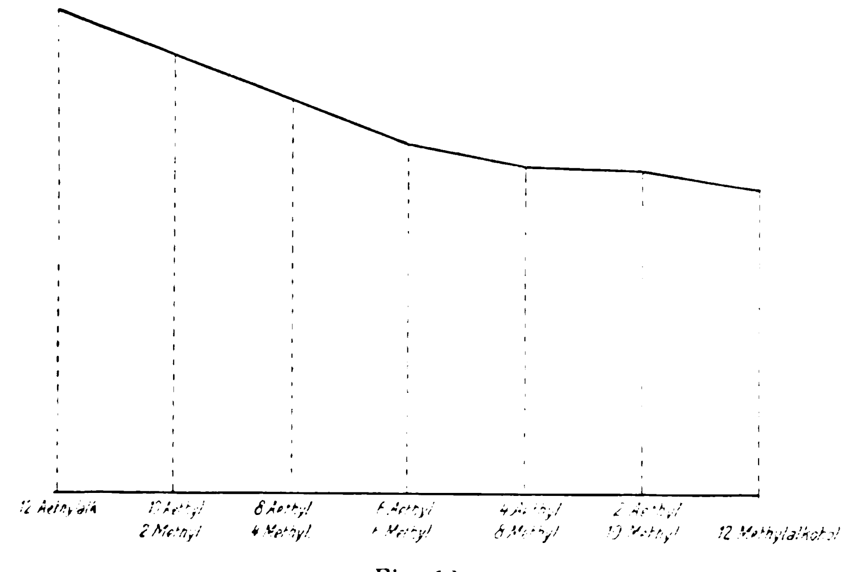


Fig. 12.

[1] Ähnliche Verhältnisse fand auch Bechhold bei der Mischung von Halogennaphtolen. *Diese Zeitschrift.* 1909. Bd. LXIV. S. 128.

Wie verhalten sich nun Substanzen bei der Kombination, die chemisch nicht miteinander verwandt sind, sondern ganz verschiedenen Klassen von Körpern angehören? Hier muß zunächst, da ein gleiches Verhalten der Kurven nicht von vornherein vorausgesetzt werden kann, für jeden Körper die Konzentrationskurve mit möglichster Genauigkeit bestimmt werden.

Zunächst wurden Phenol- und Salzsäurelösungen kombiniert. Die Konzentrationskurven ließen sich mit ziemlicher Sicherheit aus dem Resultat der Tabelle VIII konstruieren; sie sind in der beigefügten Figur eingetragen. Die Resultante der beiden Kurven würde unter der Verbindungslinie der beiden Ordinatenendpunkte verlaufen. Der Versuch (s. Tabelle VIII) ergibt aber eine Kurve, die in allen Punkten über dieser Verbindungslinie liegt, und die bei vier Fünfteln Phenol und einem Fünftel Salzsäure ein Maximum besitzt. Dieser Verlauf kann unmöglich durch eine Addition, und zwar weder durch Iso-Addition, die hier durch die Verschiedenheit der Konzentrationskurven von vornherein ausgeschlossen ist, noch durch Hetero-Addition erklärt werden, sondern muß unbedingt als Verstärkungswirkung angesehen werden.

Es fragt sich nun, ob wir diese durch die Kombination bewirkte Verstärkung erklären können. Die Erklärung wäre auf doppelte Weise möglich.

Man könnte zunächst an eine chemische oder physikalische Beeinflussung der beiden Substanzen denken. Chemische Umsetzungen kommen nicht in Betracht. Denn nach Schneider[1] reagieren die Phenole und Säuren in wässeriger Lösung nicht miteinander. Aber physikalisch-chemische Prozesse wären denkbar, und zwar weniger Änderungen der Oberflächenspannung, wie im zweiten Teil dieser Arbeit gezeigt werden wird, als Änderungen des Dissoziationsgrades.

Das Phenol besitzt den Charakter einer schwachen Säure. Es ist also, wenn auch in geringem Grade, in H-Ionen und C_5H_6O-Ionen gespalten. Wenn daher zu einer Phenollösung durch Salzsäurezusatz weitere H-Ionen hinzugefügt werden, so wird die Dissoziation des Phenols vermindert werden. Da aber die Phenolat-Ionen unwirksam sind, und die Wirkung des Phenols durch die nicht dissoziierte Molekel bedingt ist, wird diese Zurückdrängung der Dissoziation eine Verstärkung der Desinfektionswirkung zur Folge haben. Umgekehrt wird freilich zugleich auch die Dissoziation der Salzsäure vermindert, und damit die Möglichkeit einer Abschwächung ihrer Wirkung gegeben. Aber dieser

[1] A. a. O.



Tabelle VIII.

Phenol (n/12) + Salzsäure (n/100). Ersetzungsversuch.

Minuten	5/5 Phenol (12 ccm)	4/5 Phenol (9·6 ccm), 1/5 Salzsäure (2·4 ccm)	3/5 Phenol (7·2 ccm), 2/5 Salzsäure (4·8 ccm)	2/5 Phenol, 3/5 Salzsäure	1/5 Phenol, 4/5 Salzsäure	5/5 Salzsäure (12 ccm)
5	deutlich bis stark vermindert	0	sehr stark vermindert	deutlich vermindert	reichlich	reichlich
10	stark vermindert	0	3	sehr stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert
20	sehr stark vermindert	0	0	5	800	sehr stark vermindert
40	9	0	0	0	1	7
60	1	0	0	0	0	1
120	0	0	0	0	0	0

Minuten	Phenol (n/12)					Salzsäure (n/100)				
	5/5 Phenol	4/5 Phenol, (+ 1/5 Wasser)	3/5 Phenol (+ 2/5 Wasser)	2/5 Phenol	1/5 Phenol	5/5 Salzsäure	4/5 Salzsäure	3/5 Salzsäure	2/5 Salzsäure	1/5 Salzsäure
5	deutlich bis stark vermindert	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
10	stark vermindert	vermindert	„	„	„	deutlich vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	vermindert	„	„
20	sehr stark vermindert	deutlich vermindert	„	„	„	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert	„
40	9	stark vermindert	Spur vermindert	„	„	7	46	sehr stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert
60	1	stark bis sehr stark vermindert	desgl.	„	„	1	7	500	stark bis sehr stark vermindert	„
120	0	500	vermindert	„	„	0	0	18	sehr stark vermindert	deutlich vermindert

Vorgang, der beim schwach dissoziierten Phenol von Bedeutung sein könnte, spielt bei der Salzsäure, die in dieser Konzentration so gut wie vollkommen dissoziiert ist, zumal bei dem geringen Zuwachs an Wasserstoffionen, keine Rolle.

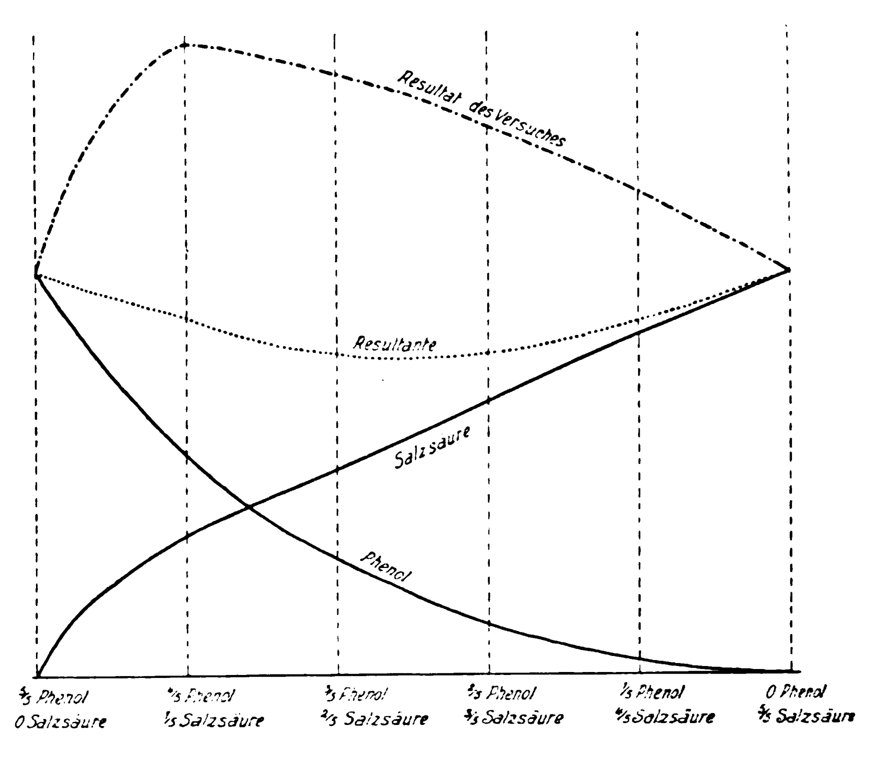


Fig. 13.

Man könnte daraufhin die Verstärkung der Wirkung so erklären, daß durch Rückdrängung der Dissoziation durch die Salzsäure die Wirksamkeit des Phenols gesteigert werde. Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, daß die Verstärkung am größten ist, wenn man große Phenolmengen mit kleinen Salzsäuremengen kombiniert. Indessen scheint es mir doch sehr zweifelhaft, ob diese Verminderung der Dissoziation allein zur Erklärung ausreicht. Es wird dann nichts anderes übrig bleiben, als hier eine spezifische Verstärkung in dem Sinne anzunehmen, daß das eine Mittel die Bakterien gewissermaßen für das andere präpariert, so daß die durch ein Mittel geschädigten Bakterien dem anderen leichter unterliegen. Für diese Annahme spricht der Umstand, daß bei nahe verwandten Mitteln eine solche Verstärkung nicht stattfindet. Daß diese „Deutung“ im Grunde nicht viel mehr ist als eine Umschreibung der Tatsachen, dessen bin ich mir wohl bewußt.

Tabelle IX.

12 ccm Kalilauge (n/45) + 12 ccm Alkohol (35 Prozent). Ersetzungsversuch.

Minuten	5/5 Alkohol (12 ccm)	4/5 Alkohol (9·6 ccm), 1/5 Kalilauge (2·4 ccm)	3/5 Alkohol, 2/5 Kalilauge	2/5 Alkohol, 3/5 Kalilauge	1/5 Alkohol, 4/5 Kalilauge	5/5 Kalilauge
1	deutlich bis stark vermindert	0	sehr stark vermindert	—	—	—
5	92	0	0	49	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert
10	0	0	0	1	38	26
20	0	0	0	0	0	6
40	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	0	0	0

Minuten	Alkohol (35 Prozent)					Kalilauge (n/45)				
	5/5 Alkohol	4/5 Alkohol (+ 1/5 Wasser)	3/5 Alkohol (+ 2/5 Wasser)	2/5 Alkohol	1/5 Alkohol	5/5 Kalilauge	4/5 Kalilauge	3/5 Kalilauge	2/5 Kalilauge	1/5 Kalilauge
5	92	deutlich vermindert	Spur vermindert	reichlich	reichlich	sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich vermindert	vermindert	reichlich
10	0	desgl.	vermindert	vermindert	„	26	stark bis sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich vermindert	„
20	0	„	deutlich vermindert	„	„	6	desgl.	desgl.	deutlich bis stark vermindert	„
40	0	„	desgl.	„	„	0	sehr stark vermindert	„	stark vermindert	„
60	0	deutlich bis stark vermindert	„	deutlich vermindert	„	0	300	„	desgl.	„
120	0	desgl.	deutlich bis stark vermindert	desgl.	„	0	66	stark bis sehr stark vermindert	„	„

Das gleiche Resultat wie die Kombination von Phenol und Salzsäure ergab auch ein Versuch mit Alkohol und Kalilauge (s. Tabelle IX).[1]

Auch hier waren die Konzentrationskurven der beiden Substanzen untereinander verschieden. Eine Iso-Addition kann bei ihrer Kombination infolgedessen gar nicht in Frage kommen. Es findet aber auch keine Hetero-Addition statt. Denn dann müßte die Wirkung der Kombination in allen Mischungsverhältnissen schwächer sein als die der Einzelsubstanzen, da die Resultante ihrer Konzentrationskurven unter der Verbindungslinie

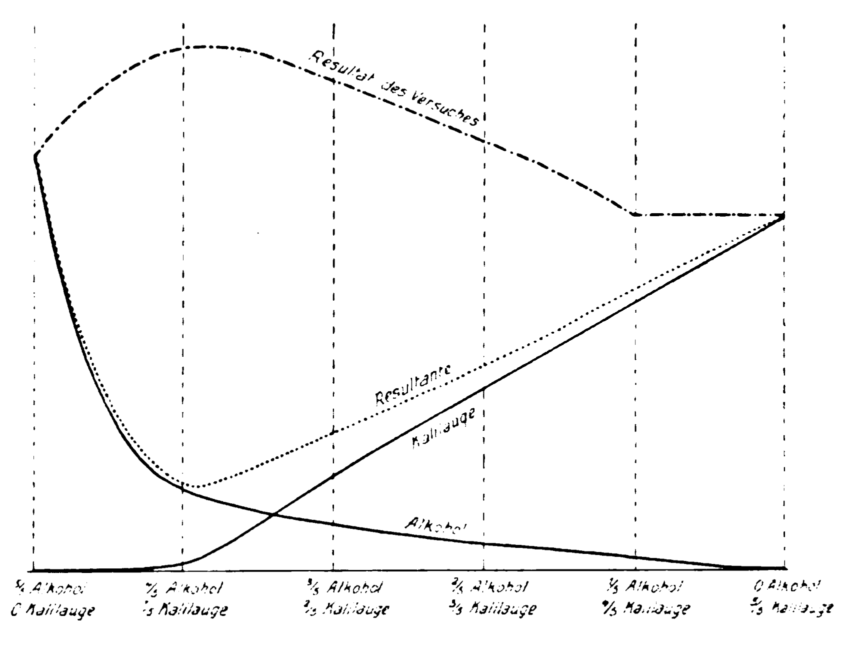


Fig. 14.

der beiden Ordinatenendpunkte verläuft. Tatsächlich war aber die Wirkung der Kombination nirgends schwächer und überragte sogar zum Teil die Einzelwirkungen recht bedeutend.

Es handelt sich also auch in diesem Falle um eine Verstärkungswirkung. Auch für diese Wirkung finden wir keine andere Erklärung, als die Annahme, daß die durch die eine Substanz geschädigten Bakterien der anderen leichter unterliegen.

Durch die beiden zuletzt angeführten Versuche wurde das Auftreten von Verstärkungswirkungen bei der Kombination verschieden gearteter Substanzen bewiesen, während vorher bei nahe verwandten Mitteln Iso-Addition gefunden worden war.

[1] Eisenberg u. Okolska haben sich in einer nach Abschluß der vorliegenden Versuchsreihen veröffentlichten Arbeit (*Centralbl. f. Bakteriol.* I. Abteil. Orig. 1913. Bd. LXIX. S. 312) gleichfalls mit der Wirkung von Alkohol + Kalilauge beschäftigt.



Bei der geringen Ausdehnung unserer Versuche in dieser Richtung müssen wir es zunächst noch dahingestellt sein lassen, ob sich aus diesen Ergebnissen ein Gesetz ableiten läßt.

Es wird auch noch besonderer Untersuchungen bedürfen, um festzustellen, wo die Grenze der Verwandtschaft liegt, bis zu der sich die Substanzen in ihren Wirkungen addieren. Wir haben bisher nur konstatiert, daß Substanzen, die sich durch eine Methylgruppe (Phenol und Kresol, Methyl- und Äthylalkohol) unterscheiden, in diesem Sinne miteinander verwandt sind, und daß in demselben Sinne Phenol und Salzsäure oder Alkohol und Kalilauge nicht verwandt sind. Ja wir wissen nicht einmal, ob das Wesentliche die chemische Verwandtschaft der Substanzen ist oder nicht die Verwandtschaft der Wirkung, die die chemische Verwandtschaft in sich einschließt, aber wohl umfassender ist.

Ferner erhebt sich die Frage, auf welchem Einzelvorgang das verschiedene Verhalten der Substanzen beruht. Bisher war nur im allgemeinen von „Wirkung" die Rede. Diese Wirkung läßt sich aber in Einzelvorgänge zerlegen: Es findet eine Verteilung der Substanz zwischen Bakterien und Wasser statt, ein Eindringen in die Bakterien und eine Reaktion zwischen Substanz und Bakterienprotoplasma. Auf welchem dieser Vorgänge die Divergenz in der Kombinationswirkung von verwandten und verschiedenen Substanzen beruht, wäre auch noch zu untersuchen.

Bürgi, der die Kombinationswirkung von Substanzen, besonders von Narcoticis, an Tieren studiert hat, nimmt an, daß es sich bei den „Wirkungspotenzierungen", die er beobachtet hat, um Unterschiede in der Verteilung handelt, daß die Zellen von zwei Substanzen verschiedener Untergruppen mehr an wirksamer Substanz in der Zeiteinheit aufnehmen können als von zwei Substanzen einer Untergruppe.

Ob zwischen den Befunden Bürgis und den unseren ein Zusammenhang besteht, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Ein Schüler Bürgis, Blessing[1], hat in einer Arbeit die Anschauungen Bürgis auch auf Desinfektionsmittel auszudehnen versucht und erblickt im Verhalten von Phenol und Formalin eine Bestätigung derselben.

Bürgi[2] selbst weist allerdings darauf hin, daß man nicht ohne weiteres Versuche, die unter derartig verschiedenen Bedingungen angestellt sind, miteinander vergleichen kann.

Zur Vorsicht in dieser Richtung mahnt auch folgendes: Breslauer und Woker[3] haben bei der Kombination von Methyl- und Äthylalkohol

[1] Blessing, *Ergebnisse der gesamten Zahnheilkunde.* 2. Jahrg. S. 242.

[2] Bürgi, Über wirkungspotenzierende Momente in Arzneigemischen. *Med. Klinik.* 1912.

[3] Breslauer u. Woker, *Zeitschrift f. allgem. Physiologie.* 1912. Bd. XIII. S. 309



Colpidien gegenüber eine Verstärkungswirkung erhalten, während wir Bakterien gegenüber eine Iso-Addition fanden.

Die fettsauren Salze.

Man kann durch Kombination von Substanzen auch verstärkte Desinfektionswirkungen auslösen, die sich nicht nach dem eben geschilderten Mechanismus durch das Nebeneinanderwirken zweier Substanzen erklären lassen, und die andererseits auch nicht dadurch zustande kommen, daß chemische oder physikalische Veränderungen in der Lösung stattfinden.

Eine derartige Wirkung entfalten die Seifen. Als Seifen werden bekanntlich die Kalium- und Natriumsalze der höheren Fettsäuren bezeichnet. Nach Reichenbach[1] besteht die Wirkung dieser Seifen in einer kombinierten Wirkung von Alkalihydrat und fettsaurem Salz. Das Alkalihydrat stammt zu einem Teil, den er als überschüssiges Alkali bezeichnet, von der Fabrikation her, zum anderen Teil entsteht es durch die hydrolytische Spaltung des fettsauren Salzes in freies Alkali und saures fettsaures Salz. Der Grad dieser hydrolytischen Spaltung nimmt im allgemeinen in der Reihe der gesättigten Fettsäuren mit steigendem Molekulargewicht zu; bei den Salzen der ungesättigten Fettsäuren ist er mit Ausnahme der Elaïdinsäure gering.

Um den Beweis zu erbringen, daß die Wirkung der Seife aus zwei Komponenten besteht, der Wirkung des Alkalis und der Wirkung des fettsauren Salzes, brachte Reichenbach in einem Desinfektionsversuch diese beiden Komponenten zusammen: als Alkali wandte er Kalilauge an, und als fettsaures Salz das ölsaure Kalium. Dieses Salz gehört zu der Reihe der ungesättigten Fettsäuren, ist also wenig hydrolytisch gespalten. Darum eignete es sich zu diesem Versuch, denn seine Wirkung beruht hauptsächlich auf der Wirkung des fettsauren Salzes. Es wurde durch diese Mischung von Alkali und ölsaurem Kalium die Wirkung der Seife, die ja aus Alkali und fettsaurem Salz besteht, nachgebildet. Bei dem Versuch stellte sich heraus, daß die Wirkung der Seife nicht etwa, wie man früher zum Teil angenommen hatte, auf reiner Alkaliwirkung beruhte, sondern daß auch das fettsaure Salz mitwirkte. Aber die Seifenwirkung war keine Addition von Laugen- und Salzwirkung. Es kam vielmehr eine Wirkung zum Vorschein, die die Summe der Einzelwirkungen weit übertraf.

Das Ergebnis dieses Versuches finden wir auch in den vorliegenden Versuchsreihen bestätigt. Diese wurden, obwohl die benutzten fettsauren

[1] A. a O.



Salze zum großen Teil fast unwirksam waren, meist in Form des Ersetzungsversuches, den auch schon Reichenbach in seiner Arbeit verwandt hatte, ausgeführt. Unter diesen Umständen hätten, falls sich die beiden Substanzen in ihrer Wirkung nur addieren würden, sämtliche Kombinationen schwächer wirken müssen als die Lauge allein. Wir finden aber Wirkungen, die die der Lauge weit übertreffen.

Tabelle X.
Kalilauge + ölsaures Kalium (n/60 Lösungen).
[Ölsaures Kalium. Kahlbaum.]

Minuten	12 ccm Kalilauge	10 ccm Kalilauge, 2 ccm ölsaures Kalium	8 ccm KOH, 4 ccm ölsaures Kalium	6 ccm KOH, 6 ccm ölsaures Kalium	4 ccm KOH, 8 ccm ölsaures Kalium	2 ccm KOH, 10 ccm ölsaures Kalium	12 ccm ölsaures Kalium
5	deutlich vermindert	600	1000	stark vermindert	deutlich vermindert	reichlich	reichlich
10	stark vermindert	20	250	sehr stark vermindert	stark vermindert	„	„
20	sehr stark vermindert	0	2	300	desgl.	„	„
40	21	0	0	4	sehr stark vermindert	Spur vermindert	„
60	9	0	0	2	desgl.	desgl.	„
120	0	0	0	0	„	vermindert	„

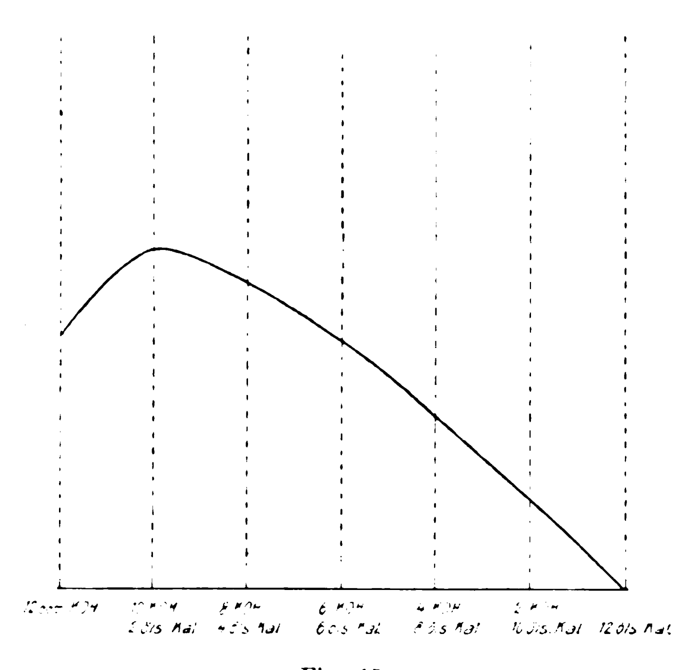


Fig. 15.



So sehen wir an Versuch Nr. 10, daß eine fast unwirksame Lösung von ölsaurem Kalium imstande ist, die Wirkung äquivalenter Mengen einer stark wirksamen Lauge nicht nur zu kompensieren, sondern bedeutend überzukompensieren. Einer dieser Versuche wurde auch statt mit Gelatine mit Agar angestellt, ohne ein wesentlich anderes Ergebnis zu zeigen. Um zu beweisen, daß hier nicht nur eine spezielle Wirkung auf Bact. coli vorlag, wurde ein Parallelversuch mit Coli und Staphylococcus pyog. aur. angesetzt. Auf die Staphylokokken übte das Gemisch von Lauge und ölsaurem Kalium die gleiche Wirkung aus wie auf Bact. coli.

Tabelle XI. (Versuch mit Agar als Nährboden.)
Kalilauge + ölsaures Kalium (n/80 Lösungen) [ölsaures Kalium selbst gefertigt]

Min.	12 ccm Kalilauge	10 ccm Kalilauge 2 ccm Seife	8 ccm Kalilauge 4 ccm Seife	6 ccm Kalilauge 6 ccm Seife	4 ccm Kalilauge 8 ccm Seife	2 ccm Kalilauge 10 ccm Seife	12 ccm Seife
5	deutlich vermindert	30	300	sehr stark vermindert	stark vermindert	vermindert	reichlich
10	stark bis sehr stark vermindert	1	4	120	sehr stark vermindert	vermindert	reichlich
20	350	0	0	0	10	stark vermindert	vermindert
40	20	0	0	0	0	800	vermindert
60	6	0	0	0	0	550	deutlich vermindert
120	0	0	0	0	0	350	deutlich vermindert

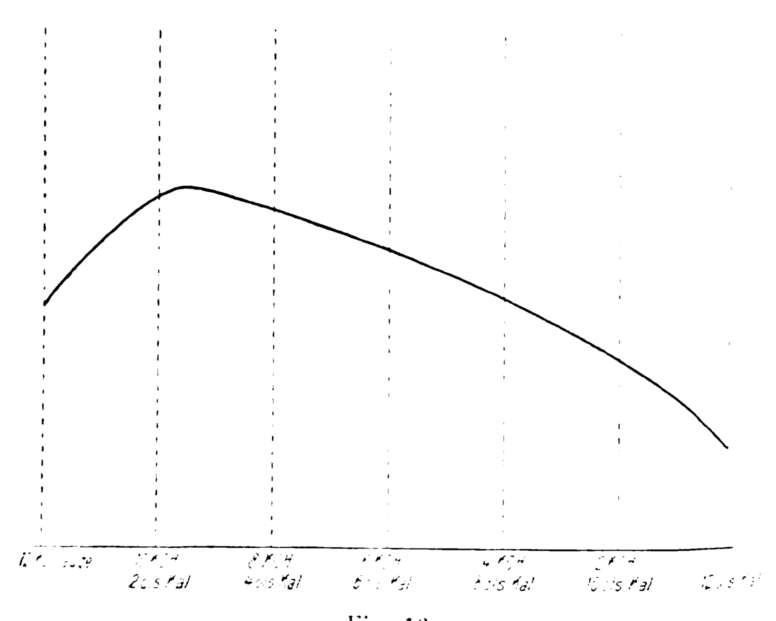


Fig. 16.

Tabelle XII.

Kalilauge (n/50) + ölsaures Kalium Kahlbaum (n/100).

	Bacterium coli.							Staphylococcus pyog. aureus.						
Minuten	12 ccm Lauge	10 ccm Lauge, 2 ccm öls. Kal.	8 ccm Lauge, 4 ccm öls. Kal.	6 ccm Lauge, 6 ccm Seife	4 ccm Lauge, 8 ccm Seife	2 ccm Lauge, 10 ccm Seife	12 ccm Seife	12 ccm Lauge	10 ccm Lauge, 2 ccm öls. Kal.	8 ccm Lauge, 4 ccm öls. Kal.	6 ccm Lauge, 6 ccm öls. Kal.	4 ccm Lauge, 8 ccm öls. Kal.	2 ccm Lauge, 10 ccm öls. Kal.	12 ccm Seife
5	sehr stark vermind.	0	23	sehr stark vermind.	deutlich vermind.	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
10	360	0	1	260	stark vermindert	„	„	„	„	„	„	„	„	„
20	34	0	0	25	sehr stark vermind.	vermindert	„	„	deutlich vermind.	deutlich vermind.	vermindert	„	„	„
40	0	0	0	0	1	deutlich vermind.	„	vermindert	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	stark vermindert	stark vermindert	vermindert	„
60	0	0	0	0	0	stark vermindert	„	desgl.	1000	850	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	deutlich vermind.	„
120	0	0	0	0	0	sehr stark vermind.	„	deutlich vermind.	14	3	45	300	„	„

Ein Bild von dem Grade der Verstärkung gibt die Lage des Punktes, wo die Mischungswirkung der reinen Laugenwirkung gleich wird. So war nach Tabelle X die Mischung von sechs Teilen Lauge und sechs Teilen einer an sich unwirksamen Seifenkonzentration immer noch stärker wirksam als zwölf Teile Lauge allein. Das heißt, durch Zusatz einer unwirksamen Seife konnte die Lauge zu einer größeren Wirksamkeit gebracht werden, als der doppelten Konzentration entsprach.

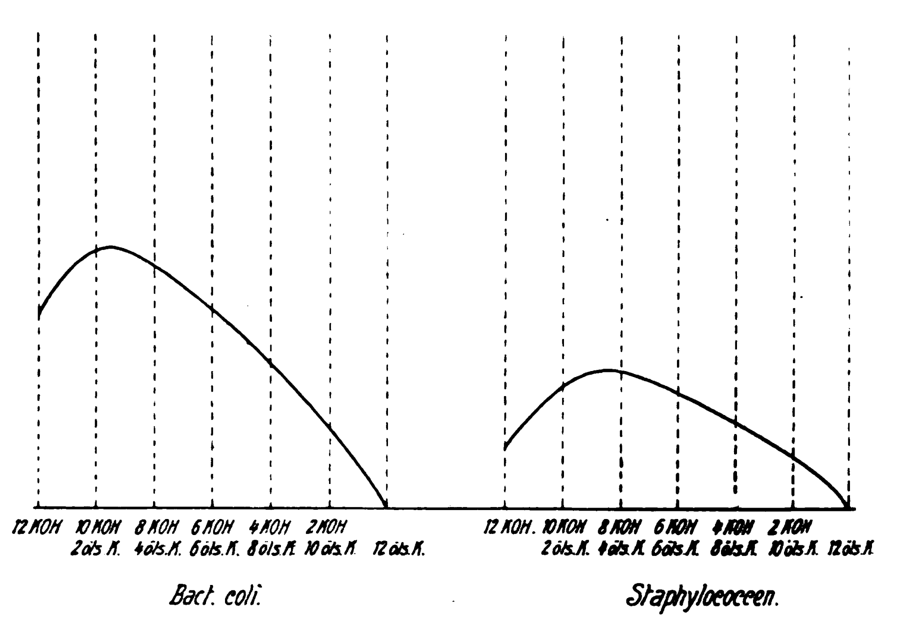


Fig. 17.

Noch auffallender war die Verstärkung bei Verwendung von Staphylokokken (Tabelle XII). Hier war die Wirkung von zwei Teilen Lauge und zehn Teilen Seife mindestens ebenso stark wie die von zwölf Teilen Lauge. Es konnte also gegenüber Staphylokokken die Lauge durch Seifenzusatz eine Desinfektionswirkung ausüben wie eine Lauge von sechsfach stärkerer Konzentration.

Es galt zunächst die Frage zu entscheiden, ob hier eine spezifische Wirkung des ölsauren Kaliums vorlag, oder ob sie auch von den übrigen fettsauren Salzen ausgeübt wurde. Es wurde darum noch eine Reihe anderer Seifen untersucht.

Diese waren zum größten Teil von Hrn. Professor Reichenbach zu seinen Versuchen angefertigt und mir jetzt überlassen worden, einen kleinen Teil habe ich selbst hergestellt, zum Teil waren sie auch fertig bezogen (Kahlbaum).



Tabelle XIII.

Kalilauge (n/80) + elaïdinsaures Kalium (n/100).

Minuten	12 ccm KOH	10 ccm KOH, 2 ccm elaïdinsaures Kal.	8 ccm KOH, 4 ccm elaïdinsaures Kal.	6 ccm KOH, 6 ccm elaïdinsaures Kal.	4 ccm KOH, 8 ccm elaïdinsaures Kal.	2 ccm KOH, 10 ccm elaïdinsaures Kal.	12 ccm elaïdinsaures Kal.
5	deutlich vermindert	4	54	sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert bis deutlich vermindert
10	deutlich bis stark vermindert	0	0	10	800	stark vermindert	deutlich vermindert
20	stark vermindert	0	0	0	2	200	stark vermindert
40	sehr stark vermindert	0	0	0	0	0	120
60	116	0	0	0	0	0	0
120	8	0	0	0	0	0	0

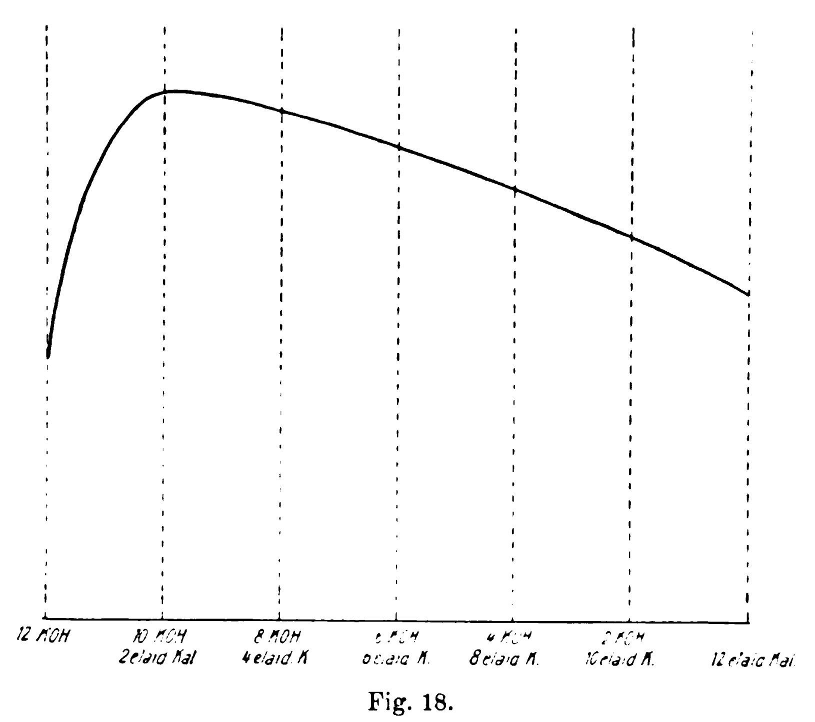


Fig. 18.

Von den Salzen der ungesättigten Fettsäuren wurden in dieser Weise noch untersucht das Kalisalz der Elaïdinsäure, die der Ölsäure isomer ist, sich aber von ihr durch stärkere hydrolytische Spaltung und stärkere Desinfektionswirkung unterscheidet, und das der Ricinolsäure, einer Oxyölsäure, deren Kalisalz keine hydrolytische Spaltung zeigt.

Tabelle XIV.
Kalilauge + ricinolsaures Kalium (n/70 Lösungen).

Minuten	12ccm KOH	10ccm KOH, 2ccm ricinolsaures Kal.	8ccm KOH, 4ccm ricinolsaures Kal.	6ccm KOH, 6ccm ricinolsaures Kal.	4ccm KOH, 8ccm ricinolsaures Kal.	2ccm KOH 10ccm ricinolsaures Kal.	12ccm ricinolsaures Kal.
5	deutlich bis stark vermindert	sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	Spur vermindert	reichlich	reichlich
10	stark vermindert	2	120	sehr stark vermindert	stark vermindert	„	„
20	sehr stark vermindert	0	0	5	63	stark vermindert	„
40	28	0	0	0	0	stark bis sehr stark vermindert	„
60	10	0	0	0	0	desgl.	„
120	2	0	0	0	0	„	„

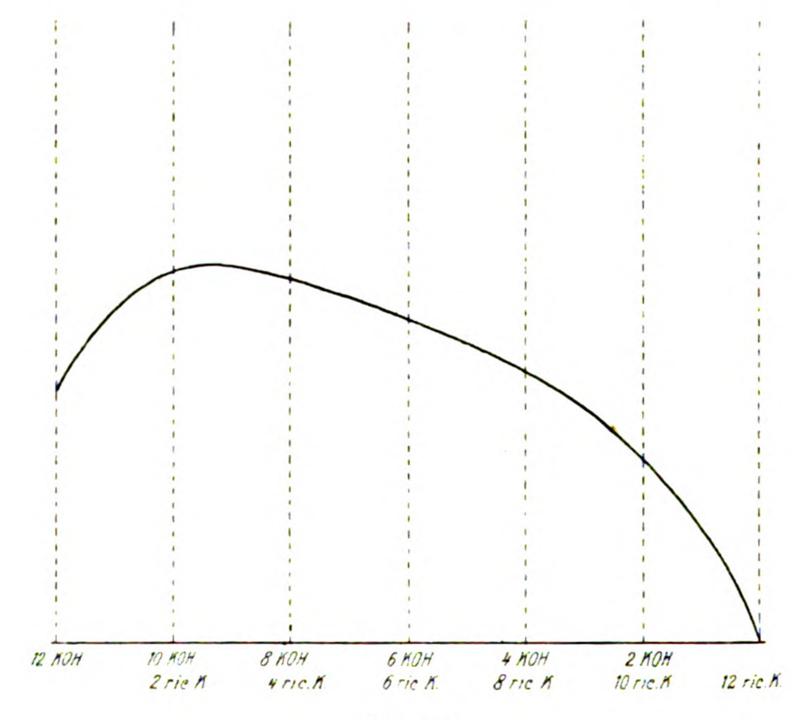


Fig. 19.

Aus der Reihe der gesättigten Fettsäuren wurde das Palmitat und von Salzen mit niederem Molekulargewicht das Caprinat, Nonylat, die eben noch Seifencharakter haben, und auch das Caprylat untersucht (Tabelle XIII bis XVIII).

Tabelle XV. Kalilauge (n/80) + palmitinsaures Kalium (n/100).

Minuten	12 ccm KOH	10 ccm KOH, 2 ccm palmitinsaures Kalium	8 ccm KOH, 4 ccm palmitinsaures Kalium	6 ccm KOH, 6 ccm palmitinsaures Kalium	4 ccm KOH, 8 ccm palmitinsaures Kalium	2 ccm KOH, 10 ccm palmitinsaures Kalium	12 ccm palmitinsaures Kalium
5	deutlich vermindert	3	4	4	sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich vermindert
10	deutlich bis stark vermindert	0	0	0	0	250	stark vermindert
20	stark vermindert	0	0	0	0	29	200
40	sehr stark vermindert	0	0	0	0	0	0
60	116	0	0	0	0	0	0
120	8	0	0	0	0	0	0

Fig. 20.

Bei allen fettsauren Salzen trat die verstärkte Wirkung durch Kombination mit Lauge auf, allerdings mit gewaltigen Unterschieden.

Das Caprinat, Nonylat und Caprylat waren schon in n/50-Lösungen unwirksam, also in viel stärkerer Konzentration, als die war, in der Oleat die Wirkung noch sehr ausgesprochen zeigte. Es trat im Ersetzungsversuch mit Kalilauge eine Abschwächung der Wirkung auf, wie sie infolge der Verdünnung zustande kommen konnte.

Tabelle XVI.

Kalilauge (n/80) + caprinsaures Kalium (n/50).

Minuten	12 ccm Kalilauge	10 ccm Kalilauge, 2 ccm caprinsaures Kalium	8 ccm Kalilauge, 4 ccm caprinsaures Kalium	6 ccm Kalilauge, 6 ccm caprinsaures Kalium	4 ccm Kalilauge, 8 ccm caprinsaures Kalium	2 ccm Kalilauge, 10 ccm caprinsaures Kalium	12 ccm caprinsaures Kalium
5	deutlich vermindert	deutlich vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	reichlich	reichlich	reichlich
10	deutlich bis stark vermindert	desgl.	deutlich vermindert	vermindert	„	„	„
20	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	desgl.	deutlich vermindert	vermindert	„	„
40	135	sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert bis deutlich vermindert	„	„
60	28	desgl.	desgl.	desgl.	deutlich vermindert	„	„
120	0	26	800	stark vermindert	desgl.	Spur ververmindert	„

Fig. 21.

Ging man indessen mit der Seifenkonzentration weiter herauf, so zeigte sich, daß auch das unterste Glied dieser Reihe, das Caprylat, noch imstande war, in geringem Grade die Wirkung der Kalilauge zu verstärken (Tabelle XIX). Denn die Wirkung eines Gemisches von zehn Teilen Kalilauge und zwei Teilen einer an sich unwirksamen n/25-Caprylatlösung war gleich der von zwölf Teilen Kalilauge. Es war also auch das caprylsaure Kalium noch imstande, zusammen mit einer (im Verhältnis 5:6)

Tabelle XVII.

Kalilauge (n/80) + nonylsaures Kalium (n/50).

Minuten	12 ccm KOH	10 ccm KOH + 2 ccm nonylsaures Kalium	8 ccm KOH + 4 ccm nonylsaures Kalium	6 ccm KOH + 6 ccm nonylsaures Kalium	4 ccm KOH + 8 ccm nonylsaures Kalium	2 ccm KOH + 10 ccm nonylsaures Kalium	12 ccm nonylsaures Kalium
5	deutlich vermindert	vermindert	Spur vermindert	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
10	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	vermindert	Spur vermindert	,,	,,
20	stark vermindert	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	vermindert	Spur vermindert	,,
40	135	stark bis sehr stark vermindert	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	desgl.	,,
60	28	600	desgl.	stark vermindert	desgl.	vermindert	,,
120	0	29	500	stark bis sehr stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	,,

12 KOH — 10 KOH 2 nonyls. K — 8 KOH 4 nonyls. K — 6 KOH 6 nonyls. K — 4 KOH 8 nonyls. K — 2 KOH 10 nonyls. K — 12 nonyls. K

Fig. 22.

schwächer konzentrierten Kalilauge die Wirkung einer stärker konzentrierten zu erreichen.

Das Maximum der Wirkung lag bei der Kombination von Lauge und fettsaurem Salz immer ungefähr an der gleichen Stelle, in der ersten Hälfte der Kurve. Das weist darauf hin, daß trotz der großen quantitativen Unterschiede die Art der Wirkung der ver-

Tabelle XVIII.
Kalilauge (n/80) + caprylsaures Kalium (n/50).

Minuten	12 ccm KOH	10 ccm KOH, 2 ccm capryl-saures Kalium	8 ccm KOH, 4 ccm capryl-saures Kalium	6 ccm KOH, 6 ccm capryl-saures Kalium	4 ccm KOH, 8 ccm capryl-saures Kalium	2 ccm KOH, 10 ccm capryl-saures Kalium	12 ccm capryl-saures Kalium
5	deutlich vermindert	deutlich vermindert	vermindert	vermindert	Spur vermindert	reichlich	reichlich
10	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	„	„
20	stark vermindert	desgl.	desgl.	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	„	„
40	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	desgl.	desgl.	„	„
60	116	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	vermindert	„
120	8	52	105	500	stark bis sehr stark vermindert	„	Spur vermindert

12 KOH — 10 KOH 2 capryls. K — 8 KOH 4 capryls. K — 6 KOH 6 capryls. K — 4 KOH 8 capryls. K — 2 KOH 10 capryls. K — 12 capryls. K

Fig. 23.

schiedenen Seifen doch dieselbe ist. Diese Lage des Maximums ist bei den Versuchen, wo die Seife allein unwirksam ist, wie z. B. beim ölsauren Kalium, wohl dadurch zu erklären, daß im ersten Teil der Kurve in den Gemischen mehr wirksame Kalilauge als unwirksame Seife enthalten ist. Aber bei anderen Versuchen, z. B. mit Palmitat oder Elaïdat, übertrifft die Einzelwirkung der Seife die der Lauge: man sollte daher das Maximum im zweiten Teile der Kurve erwarten. Es liegt aber auch hier im ersten

Tabelle XIX.

Kalilauge (n/80) + caprylsaures Kalium (n/20).

Minuten	12 ccm KOH	10 ccm KOH, 2 ccm caprylsaures Kalium	8 ccm KOH, 4 ccm caprylsaures Kalium	6 ccm KOH, 6 ccm caprylsaures Kalium	4 ccm KOH, 8 ccm caprylsaures Kalium	2 ccm KOH, 10 ccm caprylsaures Kalium	12 ccm caprylsaures Kalium
5	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	vermindert	reichlich	reichlich	reichlich
10	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert	,,	,,
20	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	desgl.	deutlich vermindert	,,	,,
40	135	98	300	stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	vermindert	,,
60	28	14	51	sehr stark vermindert	desgl.	,,	,,
120	0	0	7	73	stark vermindert	deutlich vermindert	,,

Fig. 24.

Teile. Die Ursache dafür liegt darin, daß die Eigenwirkung dieser hydrolytisch gespaltenen Seifen bereits auf der Kombination von OH-Ionen und fettsaurem Salz beruht. Man kann wohl auch bei dieser Kombination in den durch Hydrolyse abgespaltenen OH-Ionen das Wirksame erblicken und dem fettsauren Salz dieselbe kleine Eigenwirkung zuschreiben, wie den fettsauren Salzen mit geringer hydrolytischer Spaltung. Dann sind die Versuche mit Kalilauge + palmitinsaurem bzw. elaïdinsaurem Kalium nicht

anders zu beurteilen wie die übrigen. Nur ersetzt man dabei die wirksame Lauge nicht durch unwirksames fettsaures Salz allein, sondern durch fettsaures Salz + schwächerer OH-Ionenkonzentration. Es ist also auch hier zu verstehen, daß das Maximum der Wirkung nach der Seite zu liegt, wo mehr Lauge im Gemisch vorhanden ist.

Für die einheitliche Deutung dieser Versuche ist es wichtig, daß man die Wirkung sämtlicher Kombinationen von Lauge und fettsaurem Salz als Kombination von wirksamer und unwirksamer Substanz auffassen muß. Es ist demnach bei keiner dieser Kombinationen möglich, die Wirkung als Heteroaddition zu deuten. Das geht ferner auch daraus hervor, daß keine Parallelität zwischen Eigenwirkung und Verstärkungswirkung besteht. Nach Reichenbach desinfizierte z. B. das Oleat schwächer als das Caprinat, seine Verstärkungswirkung war dagegen in meinen Versuchen sehr viel größer.

Wie kann man sich nun diese Wirkung der Seifenlaugengemische erklären?

Kann sie durch Veränderungen der Substanzen in der Lösung bedingt sein?

Chemische Umsetzungen kommen nicht in Frage.

Auch Änderungen des Dissoziationsgrades können nicht die Ursache für die Verstärkungswirkung sein. Denn der Dissoziationsgrad der Lauge könnte durch den Seifenzusatz nur herabgesetzt werden, und da die Desinfektionswirkung der Lauge von der Stärke ihres Dissoziationsgrades abhängig ist, könnte dies höchstens eine Verminderung der Wirkung hervorrufen. Daß auch eine Änderung des Dissoziationszustandes der Seife für ihre Verstärkungswirkung nicht von wesentlicher Bedeutung ist, kann man daraus schließen, daß sowohl stark dissoziierte Seifen, Palmitat, wie schwach dissoziierte, Oleat, wie gar nicht dissoziierte, Ricinolat, diese Wirkung ausüben.

Die Lösungen der hydrolytisch gespaltenen fettsauren Salze sind trüb durch unlösliches saures fettsaures Salz, das bei der Hydrolyse entsteht. Fügt man aber zu einer derartigen Lösung Kalilauge hinzu, so wird sie klar. Dadurch wird die Lösung um Substanzen bereichert, die vorher in ungelöstem Zustande keine Wirkung ausüben konnten. Man kann sich vorstellen, daß ein derartiger Vorgang eine Verstärkung der Desinfektionswirkung hervorruft. Wir können indessen auch darin nicht den Grund für die Verstärkungswirkung erblicken, weil diese eben auch bei fettsauren Salzen zustande kommt, die gar nicht hydrolytisch gespalten sind und in wässeriger Lösung gar keine Stoffe enthalten, die erst in Lösung gebracht werden müssen.



Die fettsauren Salze haben nun eine Eigenschaft, die mit der Verstärkungswirkung in Zusammenhang stehen kann. Sie erniedrigen erheblich die Oberflächenspannung des Wassers. Das ist durch Bestimmungen an den Oberflächen Wasser gegen Luft und Wasser gegen Öl und Kohlenwasserstoff festgestellt worden. Auch wir haben Untersuchungen darüber angestellt.

Als Meßinstrument diente das Traubesche Stalagmometer.[1] Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle XX mitgeteilt, in der die gefundenen Tropfenzahlen angegeben sind.

Tabelle XX.

Temperatur 20°	Stalagmometer Tropfenzahl
Wasser	17·36
Ölsaures Kalium n/80 in Wasser	52
KOH n/80	17·34
Ölsaures Kalium n/80 in KOH n/80	38·12
Phenol n/15	19·64
Ölsaures Kalium n/80 in Phenol n/15	50

Aus diesen Zahlen kann man erkennen, daß das ölsaure Kalium in einer Konzentration von n/80 eine gewaltige Erniedrigung der Oberflächenspannung des Wassers bewirkt und auch die Oberflächenspannung einer schwachen wässerigen Kalilauge — und auch einer schwachen Phenollösung — sehr stark erniedrigt.

Es lag nun nahe daran zu denken, daß zwischen dieser Eigenschaft der Seife und der beobachteten Verstärkungswirkung ein Zusammenhang bestände.

Dieser Zusammenhang könnte zunächst einmal darauf beruhen, daß die Gegenwart des Stoffes mit niedriger Oberflächenspannung das Eindringen der Lauge in die Bakterien beschleunigte. Nach Traube[2] wird die Osmose von Salzen in das Innere des Gerstenkorns und auch des Bakteriums durch Zusatz derartiger Stoffe sehr erleichtert.

Wir glauben aber nicht, daß man die Seifenwirkung darauf zurückführen kann. Wir haben zwar eine Reihe von Substanzen gefunden, die die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen und zugleich mit anderen zusammen eine Verstärkung der Desinfektionswirkung geben, z. B. das Phenol, das mit Salzsäure zusammen eine Verstärkung ergab, oder den

[1] In dieser Versuchsreihe, sowie in allen denen, wo starke Ausschläge zu erwarten waren, wurde ein Stalagmometer mit einer Tropfenzahl von 17·36 für gekochtes destilliertes Wasser von 20° benutzt, sonst ein anderes, das eine Tropfenzahl von 49·08 für destilliertes Wasser von 22° ergab.

[2] Traube, *Archiv f. d. g. Physiologie*. 1911. Bd. CXL. S. 118.



Alkohol. Wir werden auch noch im Natrium taurocholicum einen derartigen Körper kennen lernen. Aber andererseits findet man auch Substanzen, die die Oberflächenspannung erniedrigen und dabei die Desinfektionswirkung anderer Stoffe nicht verstärken. Das konnten wir bei Gelatinezusatz zu Phenol oder Zusatz von Saponin zu Kalilauge und Salzsäure beobachten.

Es besteht also zunächst ein allgemeines Gesetz in dem Sinne, daß Desinfizientien in Gegenwart oberflächenaktiver Substanzen stärker wirken, sicher nicht.

Aber auch spezielle Gründe sprechen gegen eine derartige Erklärung der Seifenwirkung. Denn die Seifen üben die verstärkende Wirkung auch in Lösungen aus, deren Oberflächenspannung sie nur sehr wenig erniedrigen, so zum Beispiel im Alkohol. Wir konnten zu diesen Versuchen wegen der starken Desinfektionswirkung leider nicht absoluten Alkohol oder sehr alkoholreiche Gemische von Alkohol und Wasser anwenden, deren Oberflächenspannung durch ölsaures Kalium völlig unbeeinflußt bleibt (s. Tabelle XXI).

Tabelle XXI.

Temperatur 20°	Stalagmometer Tropfenzahl
Wasser	17·36
Alcohol absolut.	46·2
Ölsaures Kalium n/80 in Alcohol absolut.	46·1
Alcohol, 75 prozent. (vol.)	44
Ölsaures Kalium n/80 in 75 prozent. Alcohol	44

Aber auch der 30 prozentige Alkohol, den wir verwandten, wird in seiner Oberflächenspannung durch die Seife nur wenig beeinflußt, wenigstens mit der Wirkung der Seife in Wasser verglichen (Tabelle XXII).

Tabelle XXII.

Temperatur 20°	Stalagmometer Tropfenzahl
Wasser	17·38
Alcohol, 30 prozent. (volum.)	35·6
Ölsaures Kalium in Alcohol, 30 prozent.	38

Trotzdem verstärkt die Seife seine Desinfektionswirkung, allerdings nicht so bedeutend wie die der Kalilauge, aber sicher weit mehr, als es der verhältnismäßig geringen Erniedrigung der Oberflächenspannung entsprechen würde.

Aus diesen Gründen glauben wir schließen zu können, daß die Eigenschaft der Seifen, die Oberflächenspannung zu erniedrigen, nicht die Ursache für ihre Verstärkungswirkung im Desinfektionsversuch ist.

Dagegen ist sie von großer Bedeutung für den Grad der Verstärkung, und das läßt sich in folgender Weise erklären:

Nach Gibbs reichern sich diejenigen Stoffe, die die Oberflächenspannung einer Lösung gegenüber einer anderen Phase erniedrigen, an der Grenzfläche gegen diese zweite Phase an. Es ist also die Seife an der Grenzfläche Wasser — Luft angereichert. Nun hat Freundlich[1] gezeigt, daß Stoffe, welche die Oberflächenspannung Wasser—Luft bzw. Wasser—Wasserdampf stark herabsetzen, meist auch an im Wasser befindliche feste Stoffe stark adsorbiert werden.

Wir können daher mit Wahrscheinlichkeit auch eine Adsorption der Seife an die Bakterien annehmen. Diese Adsorption der Seife an die Bakterien wird um so stärker sein, je stärker die Seife die Oberflächenspannung der Lösung erniedrigt. Je mehr Seife aber andererseits an die Bakterien adsorbiert wird, um so stärker muß auch ihre Wirkung sein.

Es ist also die Stärke der Seifenwirkung abhängig von dem Grade der Erniedrigung der Oberflächenspannung.

Für diese Annahme finden wir in unseren Versuchen eine zweifache Bestätigung.

Erstens üben die niederen fettsauren Salze, die nach Donnan[2] die Oberflächenspannung sehr wenig beeinflussen, auch eine bedeutend geringere Verstärkungswirkung im Desinfektionsversuch aus als die höheren, die die Oberflächenspannung stark erniedrigen.

Zweitens ist die Wirkung der Seife im Alkohol geringer als in Kalilauge. Während nämlich die ölsauren Salze im Additionsversuch noch bis zu einer Konzentration von n/30720[3] die Laugenwirkung verstärkten, war im Alkohol schon bei einer Konzentration von n/3840 die Grenze ihrer Wirksamkeit erreicht (Tabelle XXIII und XXIV). Ferner übte auch eine gleich große Seifenmenge in Kalilauge eine viel bedeutendere Wirkung aus als in Alkohol von derselben Wirksamkeit (Tabelle XXIV). Ja sogar die doppelte Menge erreichte in Alkohol die Wirkung der halben Menge in Lauge noch nicht völlig. Dem entspricht es auch, daß im Ersetzungsversuch von Alkohol gegen eine wässerige Lösung von ölsaurem Kalium die verstärkende Wirkung der Seife nicht mehr zum Vorschein kam, die im Ersetzungsversuch mit Kalilauge und ölsaurem Kalium doch ganz erheblich hervortrat.

[1] Freundlich, *Kapillarchemie.* Leipzig 1909.

[2] Donnan, *Zeitschrift f. physikal. Chemie.* 1899. Bd. XXXI. S. 45.

[3] Das bedeutet ungefähr eine $^1/_{1000}$ prozentige Lösung.



Tabelle XXIII. Additionsversuch. Gesamtflüssigkeitsmenge 12 ccm. Kalilauge (8 ccm n/20) + ölsaures Kalium (angegeben in Zahlen, die sich auf die Gesamtflüssigkeitsmenge von 12 ccm beziehen). [Ölsaures Kalium.]

Minuten	KOH	KOH n/491520 Seife	KOH n/245760 Seife	KOH n/122880 Seife	KOH n/61440 Seife	KOH n/30720 Seife	KOH n/15360 Seife	KOH n/7680 Seife	KOH n/3840 Seife	KOH n/1920 Seife	KOH n/960 Seife	KOH n/480 Seife	KOH n/240 Seife	KOH n/120 Seife	KOH n/60 Seife
5	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich bis stark verm.	stark vermindert	st. bis sehr st. verm.	550	46	6	1	0	0
10	deutlich bis stark verm.	deutlich bis stark verm.	deutlich bis stark verm.	deutlich bis stark verm.	deutlich bis stark verm.	stark vermindert	st. bis sehr stark verm.	350	24	1	0	0	0	0	0
20	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark verm. bis sehr st.	150	20	0	0	0	0	0	0	0
40	st. bis sehr stark verm.	st. bis sehr stark verm.	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	200	40	5	0	0	0	0	0	0	0
60	600	700	350	200	100	38	27	0	0	0	0	0	0	0	0
120	21	28	14	9	5	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Kalilauge (3 ccm n/20) + ölsaures Natrium (angegeben in Zahlen, die sich auf die Gesamtflüssigkeitsmenge von 12 ccm beziehen). [Ölsaures Natrium.]

Minuten	KOH	KOH n/491520 Seife	KOH n/245760 Seife	KOH n/122880 Seife	KOH n/61440 Seife	KOH n/30720 Seife	KOH n/15360 Seife	KOH n/7680 Seife	KOH n/3840 Seife	KOH n/1920 Seife	KOH n/960 Seife	KOH n/480 Seife	KOH n/240 Seife	KOH n/120 Seife
5	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutlich vermind.	deutl. bis st. verm.	deutl. bis st. verm.	stark vermindert	stark vermindert	240	15	0
10	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	deutl. bis st. verm.	stark vermindert	sehr stark vermind.	1200	800	220	13	0	0
20	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	st. b. sehr st. verm.	1000	61	55	85	19	0	0	0
40	st. b. sehr st. verm.	st. b. sehr st. verm.	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	1000	20	0	0	0	0	0	0	0
60	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	1200	1200	1000	450	8	0	0	0	0	0	0	0
120	1500	2000	400	400	200	40	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle XXIV. Alkohol 30 Proz. + ölsaures Kalium.

(Die angegebenenen Zahlen beziehen sich auf die Gesamtflüssigkeitsmenge von 10 ccm.)

Minuten	Alkohol	Alkohol + n/61440 öls. Kalium	Alkohol + n/30720 öls. Kalium	Alkohol + n/15360 öls. Kalium	Alkohol + n/7680 öls. Kalium	Alkohol + n/3840 öls. Kalium	Alkohol + n/1920 öls. Kalium (leiche Trübung)	Alkohol + n/960 öls. Kalium (Trübung)	Alkohol + n/480 öls. Kalium (Trübung)	Alkohol + n/240 öls. Kalium	Alkohol + n/120 öls. Kalium	KOH n/80	KOH n/80 + n/240 öls. Kalium
5	stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark bis sehr stark vermind.	stark vermindert	stark bis sehr stark vermind.	stark bis sehr stark vermind.	stark bis sehr stark vermind.	stark bis sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	300	stark vermind.	11
10	stark bis sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermind.	stark bis sehr stark vermind.	desgl.	stark bis sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	400	89	16	stark bis sehr stark vermind.	0
20	desgl.	desgl.	desgl.	„	desgl.	desgl.	desgl.	120	150	22	0	sehr stark vermind.	0
40	sehr stark vermindert	sehr stark vermind.	„	sehr stark vermind.	sehr stark vermind.	150	180	67	44	0	0	350	0
60	400	desgl.	„	250	350	46	1	3	12	0	0	300	0
120	42	115	60	31	45	2	0	0	0	0	0	165	2

Tabelle XXIVa. Alkohol 25 Proz. + wässeriges ölsaures Kalium (n/60). Ersetzungsversuch.

Minuten	12 ccm Alkohol	10 ccm Alkohol + 2 ccm öls. Kalium	8 ccm Alkohol + 4 ccm öls. Kalium	6 ccm Alkohol + 6 ccm öls. Kalium	4 ccm Alkohol + 8 ccm öls. Kalium	2 ccm Alkohol + 10 ccm öls. Kalium	12 ccm ölsaures Kalium
5	vermindert	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
10	deutlich vermindert	Spur vermindert	„	„	„	„	„
20	desgl.	desgl.	„	„	„	„	„
40	stark vermindert	vermindert	„	„	„	„	„
60	sehr stark vermindert	„	„	„	„	„	„
120	150	deutlich vermindert	vermindert	vermindert	„	„	„

Tabelle XXV.

Phenol + ölsaures Kalium (n/13 Lösungen).

Minuten	12 ccm Phenol	10 ccm Phenol, 2 ccm öls. Kalium	8 ccm Phenol, 4 ccm öls. Kalium	6 ccm Phenol, 6 ccm öls. Kalium	4 ccm Phenol, 8 ccm öls. Kalium	2 ccm Phenol, 10 ccm öls. Kalium	12 ccm öls. Kalium
5	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
10	vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	"	"	"
20	deutlich vermindert	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert	deutlich vermindert	vermindert	vermindert	"
40	stark vermindert	0	0	200	deutlich vermindert	deutlich vermindert	"
60	1000	0	0	0	stark vermindert	desgl.	Spur vermindert
120	0	0	0	0	1000 Kolon.	stark vermindert	vermindert

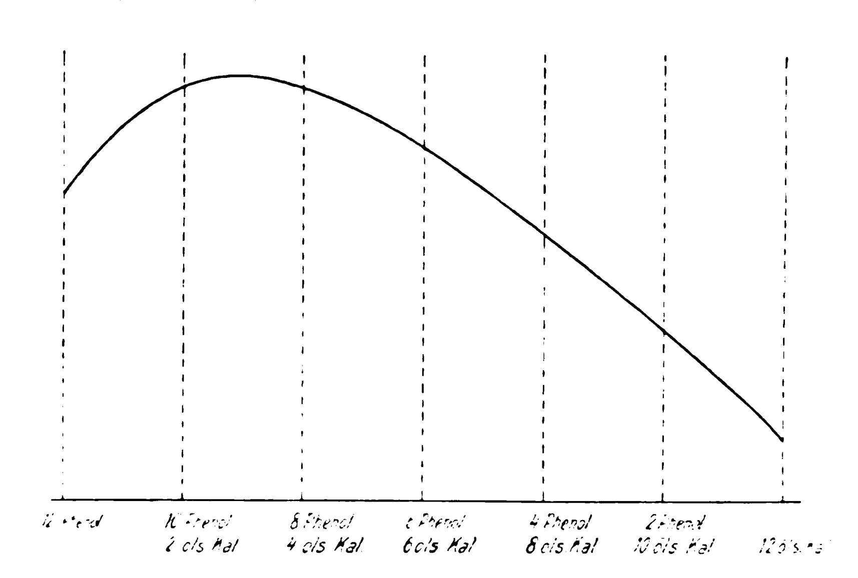


Fig. 25.

Seifen und Phenole.

Die Seifen steigern bekanntlich ebenso wie die Desinfektionswirkung der Laugen auch die der Phenole, worauf Henle[1] zuerst hingewiesen hat. Ein mit Phenol und ölsaurem Kalium angesetzter Versuch bestätigte diese Angaben (Tabelle XXV).

Weiterhin wurde untersucht, wie die Wirkung ein und derselben Phenolmenge durch verschieden große Seifenmengen beeinflußt wird

[1] Henle, a. a. O.

Tabelle XXVI. (Additionsversuch.)

Phenol (6^{ccm} n/7·5) + ölsaures Kalium in steigender Menge (die angegebenen Zahlen beziehen sich auf die Gesamtflüssigkeitsmenge von 12^{ccm}).

Minuten	Phenol	Phenol + n/61440 öls. Kal.	Phenol + n/30720 öls. Kal.	Phenol + n/15360 öls. Kal.	Phenol + n/7680 öls Kal.	Phenol + n/3840 öls. Kal.	Phenol + n/1920 öls. Kal.	Phenol + n/960 öls Kal.	Phenol + n/480 öls. Kal.	Phenol + n/240 öls. Kal.	Phenol + n/120 öls. Kal.	Phenol + n/60 öls. Kal.	Phenol + n/30 öls. Kal.	Phenol + n/15 öls. Kal.	Phenol + n/7·5 öls. Kal.
5	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	reichl.	vermindert	deutl. vermindert	deutl. vermindert	vermindert	Spur vermindert
10	Spur vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	vermindert	vermindert	vermindert	Spur vermindert	Spur vermindert	vermindert	vermindert	deutl. vermindert	s. stark vermindert	s. stark vermindert	deutl. b. stark vermindert	deutl. vermindert
20	deutl. vermindert	deutl. bis stark vermindert	stark vermindert	stark vermindert	stark bis s. stark vermindert	stark bis s. stark vermindert	deutl. bis stark vermindert	deutl vermindert	stark bis s. stark vermindert	stark bis s. stark vermindert	100	0	0	1	39
40	stark vermindert	280	300	200	38	71	sehr stark vermindert	stark vermindert	8	10	0	0	0	0	0
60	sehr stark vermindert	52	32	15	2	3	120	sehr stark vermindert	0	0	0	0	0	0	0
120	14	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0

(Tabelle XXVI). Dabei ergab sich erstens, daß bis zu einer bestimmten Konzentration mit steigendem Seifenzusatz auch die Desinfektionskraft des Gemisches zunimmt, daß aber bei noch stärkerem Seifenzusatz wieder eine Abschwächung der Wirkung eintritt. Diese Tatsache hat schon Heller[1] festgestellt. Sie läßt sich durch die hydrolytische Spaltung der Seifen erklären, die auch in geringem Grade bei dem hier angewandten ölsauren Kalium vorhanden ist. Infolge der Abspaltung von Hydroxyl- und Kaliumionen findet eine Bildung von unwirksamem Kaliumphenolat statt, die mit steigendem Seifenzusatz — wenn auch nicht proportional — zunimmt. Es kommt schließlich bei einem bestimmten Seifengehalt der Lösung dazu, daß die Einbuße an Phenol durch Phenolatbildung größer ist als der Gewinn an Seifenwirkung, d. h. daß die Desinfektionswirkung wieder schwächer wird. Die hydrolytische Spaltung der Seife, die bei der Mischung von Lauge und Seife nur eine Zunahme der Desinfektionskraft bedeuten kann, beeinträchtigt also den Desinfektionserfolg des Phenol-Seifengemisches. Schneider hat zuerst darauf hingewiesen, daß aus diesem Grunde stärker dissoziierte Seifen schwächere Desinfektionswirkungen mit Phenolen zusammen geben als wenig dissoziierte. Zweckmäßigerweise benützt daher Laubenheimer[2] als Lösungsmittel für Phenole das ricinolsaure Kalium.

Zweitens fiel bei dem Versuche auf, daß bei Zusatz von Seife zu Phenol innerhalb einer bestimmten Konzentrationsbreite eine Trübung der Lösung auftrat. Die Trübung begann bei einem Seifengehalt von n/7680, nahm mit steigendem Seifengehalt bis zu starker Intensität zu, dann wieder ab und war bei einem Seifengehalt von n/7.5 nicht mehr zu konstatieren. Diese Zustandsänderung äußerte sich auch in der Desinfektionswirkung: ungefähr der Stelle der starken Trübung entsprach eine Verminderung der Desinfektionskraft.

Drittens konnten wir bei dem Versuch die Wirksamkeit der allergeringsten Seifenmengen auch dem Phenol gegenüber konstatieren. Möglicherweise liegt hier die Grenze der Wirksamkeit noch niedriger als bei der Lauge.

Für die Beurteilung der Verstärkungswirkung ist das von großer Bedeutung. Das Phenol ist ein gänzlich anders gearteter Körper als die Kalilauge, der zum Teil sogar entgegengesetzte Eigenschaften, die einer schwachen Säure, besitzt. Trotzdem gibt er auch durch Seifenzusatz eine verstärkte Desinfektionswirkung. Auch das spricht gegen die eben zurückgewiesene Möglichkeit, daß die gemeinsame Wirkung von Lauge und Seife auf einer gegenseitigen Beeinflussung der beiden Stoffe in der Lösung beruhen könnte.

[1] Heller, *Archiv f. Hygiene.* 1903. Bd. XLVII. S. 233.
[2] Laubenheimer, *Habilitationsschrift.* Gießen 1909.

Versuche mit getrennter Einwirkung von Seife und Desinfiziens.

Man wird demnach die Ursache für die Verstärkung der Desinfektionswirkung durch Seife im Zusammentreffen der beiden Substanzen am Bacterium zu suchen haben, in dem Sinne, daß durch die Einwirkung der einen Substanz auf die Zelle eine verstärkte Wirkung der anderen hervorgerufen wird. Es sind dann an sich zwei Fälle denkbar: erstens daß die Seife dazu dient, die Wirkung der anderen Substanz zu verstärken, und zweitens der umgekehrte, unwahrscheinlichere Fall, daß mit Hilfe dieser Substanz die an sich unwirksame Seife in die Lage versetzt wird, eine Wirkung zu entfalten. Die letztere Möglichkeit wird besonders dadurch unwahrscheinlich, daß dann ganz verschiedenartige Stoffe, wie Lauge, Phenol und Alkohol imstande sein müßten, die gleiche Wirkung auszulösen.

Wir glaubten diese Fragen dadurch entscheiden zu können, daß wir die beiden Stoffe getrennt auf die Bakterien einwirken ließen, einmal zuerst die Seife, dann den anderen Stoff, das zweite Mal umgekehrt.

Die Versuche wurden fast alle mit Kalilauge und ölsaurem Kalium ausgeführt.

Zunächst wurde geprüft, ob durch eine Vorbehandlung mit Seife eine Einwirkung auf die Bakterien zur Laugenaufnahme stattfände.

Zu diesem Zwecke wurde eine dichte Aufschwemmung von Bact. coli in destilliertem Wasser hergestellt. Die eine Hälfte dieser Auschwemmung wurde mit gleichen Teilen $^1/_{10}$ normaler Lösung von ölsaurem Kalium, die andere mit gleichen Teilen destillierten Wassers versetzt. Die beiden Aufschwemmungen wurden eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann eine Stunde lang zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abpipettiert und durch destilliertes Wasser ersetzt. Der Bodensatz wurde im Wasser möglichst gut verteilt. Während das bei den mit Wasser vorbehandelten Bakterien keine Schwierigkeiten machte, war es bei den mit Seife vorbehandelten durch die schleimige, sputumartige Beschaffenheit des Bodensatzes erschwert. Es wurde dann nochmals eine halbe Stunde zentrifugiert, abpipettiert, und von beiden Bodensätzen eine Aufschwemmung in Wasser von gleicher Durchsichtigkeit hergestellt. Darauf wurden von jeder dieser beiden Aufschwemmungen drei Tropfen in je 12^{ccm} $^1/_{70}$ normaler Kalilauge gebracht, und die Desinfektionswirkung beobachtet.

Der Versuch ergab (Tabelle XXVII), daß die Vorbehandlung mit Seife keinerlei Einfluß auf die Desinfektionswirkung der Kalilauge ausgeübt hatte. Es hatte also keine Präparation des Bakterienleibes durch die Seife, etwa nach Art der Opsoninwirkung, stattgefunden. Es bestand aber die Möglichkeit, daß eine Präparation erfolgt, nur durch das Auswaschen wieder verloren gegangen war. Darum wurde in einem zweiten Versuch der durch Zentrifugieren erhaltene Bodensatz nicht ausgewaschen, sondern nach sorgfältigem Abpipettieren wurde je eine kleine



Tabelle XXVII.

Vorbehandlung mit n/20 ölsaurem Kalium ($^1/_2$ Stunde).

Zentrifugieren (1 Stunde).

Auswaschen ($^1/_2$ Stunde).

Kontrolle: Vorbehandlung mit destilliertem Wasser.

Minuten	In 12 ccm n/70 Kalilauge	
	Zusatz von	
	mit Seife vorbehandelten Bakterien	der Kontrolle
5	stark vermindert	stark vermindert
10	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert
20	240	200
40	12	18
60	0	0
120	0	0

Tabelle XXVIII.

Vorbehandlung mit n/100 ölsaurem Kalium ($^1/_2$ Stunde).

Zentrifugieren (1 Stunde).

Ohne Auswaschen.

Kontrolle: Vorbehandelt mit destilliertem Wasser.

Minuten	In 12 ccm n/80 Kalilauge	
	Zusatz von	
	mit Seife vorbehandelten Bakterien	der Kontrolle
5	stark vermindert	stark vermindert
10	sehr stark vermindert	sehr stark vermindert
20	25	22
40	3	2
60	0	0
120	0	0

Tabelle XXIX.

Vorbehandlung mit n/40 ölsaurem Kalium (2 Stunden).

Ohne Zentrifugieren und Auswaschen.

Minuten	In je 12 ccm n/80 Kalilauge		
	je 6 Tropfen		
	I. mit Seife vorbehand. Bakterien	II. unvorbehandelte Bakterien	III. unvorbehand. Bakterien + 6 Tropfen n/40 öls. Kalium
5	150	vermindert	stark vermindert
10	0	deutlich bis stark vermindert	200
20	0	sehr stark vermindert	0
40	0	41	0
60	0	18	0
120	0	3	0

Von den mit Seife vorbehandelten Bakterien wurden weniger in die Lauge eingesät als von den unvorbehandelten.

Tabelle XXX.

Vorbehandlung mit n/200 ölsaurem Kalium ($^1/_2$ Stunde).

Ohne Zentrifugieren und Auswaschen.

Minuten	In je 12 ccm n/80 Kalilauge		
	je 1 Öse		
	I. mit Seife vorbehand. Bakterien	II. unvorbehandelte Bakterien	III. unvorbehand. Bakterien + 1 Öse n/200 öls. Kalium
5	deutlich vermindert	deutlich vermindert	deutlich vermindert
10	150	950	900
20	32	120	160
40	4	26	50
60	3	14	13
120	1	2	7

Öse voll des Bodensatzes sowohl von den mit Seifenlösung wie von den mit Wasser vorbehandelten Bakterien in 12^{ccm} n/80 Kalilauge verrieben. Aber wiederum ergab der Versuch (Tabelle XXVIII), daß es keinen Unterschied für die Laugenwirkung machte, ob man die Bakterien mit Seife vorbehandelt hatte oder nicht.

Dieser Versuch wurde noch mehrmals mit etwas modifizierter Methodik wiederholt.

Es wurden möglichst dichte Aufschwemmungen von Bakterien hergestellt, die Hälfte davon mit einer schwachen Seifenlösung versetzt, die andere Hälfte mit destilliertem Wasser. Von beiden Aufschwemmungen wurden nach einiger Einwirkungszeit je sechs Tropfen in die gleichen Mengen verdünnter Kalilauge getan.

Hier zeigten nun die mit Seife vorbehandelten Bakterien tatsächlich eine bedeutend stärkere Hinfälligkeit in der Kalilauge als die anderen (Tabelle XXIX). Diese größere Hinfälligkeit brauchte jedoch nicht durch Vorbehandlung mit Seife verursacht zu sein, sondern, da beim Hineintropfen der in Seifenlösung aufgeschwemmten Bakterien in die Lauge zugleich mit den Bakterien eine geringe Seifenmenge hineingebracht worden war, konnte sie auch durch die Gegenwart dieser Seife hervorgerufen sein. Tatsächlich zeigte eine Kontrolle, bei der unvorbehandelte Bakterien in eine Kalilauge eingesät wurden, die mit der gleichen Seifenmenge versetzt war, auch einen starken Vorsprung gegenüber einer Kontrolle, bei der ebenfalls unvorbehandelte Bakterien in Kalilauge ohne Seifenzusatz sich befanden.

Zu weiterer Prüfung wurde der Versuch in der gleichen Anordnung wiederholt, nur wurden statt der sechs Tropfen der vorbehandelten Bakterien nur je eine Öse in die Lauge eingesät, um dadurch möglichst geringe Seifenmengen in die Lauge hineinzubringen. Aus demselben Grunde wurde die zur Vorbehandlung angewandte Seifenlösung möglichst schwach genommen, aber immer noch so stark, daß sie gut wirksam sein mußte. Das Ergebnis dieses Versuches (s. Tabelle XXX) war, daß dann kein Unterschied zwischen den mit Seife vorbehandelten und den nicht vorbehandelten Bakterien mehr bestand.

Eine Präparation der Bakterien durch die Seife war also nicht erwiesen. Aber es war auch nicht erwiesen, daß sie nicht erfolgte. Denn es besteht die Möglichkeit, daß diese Wirkung der Seife an ihre Gegenwart am Bacterium gebunden ist, und daß die Bakterien in der seifenfreien Lösung so viel von der adsorbierten Seife wieder abgeben, daß keine Wirkung mehr zustande kommen kann.

Zur Erklärung der verstärkten Desinfektionswirkung durch Kombination von Kalilauge und ölsaurem Kalium hatten wir noch eine zweite Möglich-



keit, wenn auch nur entfernt, in Betracht gezogen: daß umgekehrt die Lauge auf die Bakterienzelle zur Aufnahme der Seife einwirkte.

Da das ölsaure Kalium in den angewandten Konzentrationen eine nur sehr geringe eigene Desinfektionswirkung ausübt, ist es zwar von vornherein unwahrscheinlich, daß es dann eine derartig starke Wirkung entfalten sollte. Aber es wäre immerhin denkbar, daß das ölsaure Kalium nur auf die durch einen zweiten Stoff präparierten Bakterien einwirken könnte.[1]

Um diese Frage zu entscheiden, wurde die umgekehrte Versuchsanordnung, wie sie eben beschrieben wurde, getroffen: Vorbehandlung mit Lauge, nachher Einwirkung der Seife. Als Kontrolle dienten wieder nicht vorbehandelte Bakterien. Eine Störung der Versuchsergebnisse durch Übertragen von Kalilauge in die Seifenlösung konnte man dadurch leicht vermeiden, daß man nach Einsäen der in der Lauge aufgeschwemmten Bakterien in die Seife dieser die gleiche Ösenzahl äquimolekularer Säure zusetzte. Die Konzentration der Lauge zur Vorbehandlung mußte natürlich so gewählt werden, daß die Bakterien von ihr einerseits nicht sämtlich abgetötet, andererseits aber doch geschädigt wurden.

Eine Schwierigkeit bestand weiter darin, daß ein Teil der Bakterien, dessen Größe man nicht kannte, durch die Lauge abgetötet wurde, und daß man daher leicht verschieden große Mengen von vorbehandelten und unvorbehandelten Bakterien in die Seifenlösung bringen konnte. Tatsächlich waren die Ergebnisse des ersten Versuches (s. Tabelle XXXI) aus diesem Grunde irreführend. Es schien ein großer Unterschied zwischen der Wirkung der Seife auf vorbehandelte und auf nicht vorbehandelte Bakterien zu bestehen in dem Sinne, daß die Vorbehandlung mit Lauge die Einwirkung der Seife verstärkte. Das war aber nur dadurch vorgetäuscht, daß von den mit Lauge vorbehandelten Bakterien eine geringere Menge in die Seifenlösung übertragen worden war.

Ein Versuch (s. Tabelle XXXII), bei dem es gelang, gleichgroße Mengen vorbehandelter und unvorbehandelter Bakterien in die Seife zu übertragen, zeigte die Unwirksamkeit der Vorbehandlung mit Lauge für den Desinfektionseffekt der Seifenlösung. Man kann aber gegen die Beweiskraft dieses negativen Ergebnisses auch wiederum anführen, daß vielleicht diese präparierende Wirkung der Lauge nur so lange besteht, wie eine bestimmte Konzentration derselben vorhanden ist.

Doch ist eine Präparation der Bakterien durch die Lauge schon dadurch sehr unwahrscheinlich, daß dann auch so ganz anders geartete Stoffe wie Phenol und Alkohol die gleiche Wirkung ausüben müßten.

[1] Nach Eisenberg und Okolska (a. a. O.) kann man unwirksamer Seife auch durch Aussalzen eine Desinfektionswirkung verleihen. Ein derartiger Vorgang kommt hier nicht in Frage.



Tabelle XXXI.
Vorbehandlung mit n/160 Kalilauge (1/2 Stunde).
Davon je 2 Ösen in 12 ccm n/100 ölsaurem Kalium und in 12 ccm destilliertem Wasser.
Zur Kontrolle je 1 Öse unvorbehandelter Bakterien in 12 ccm ölsaurem Kalium. (Ölsaures Kalium selbst gefertigt.)

Minuten	I. Mit Lauge vorbehandelte Bakterien		II. Unvorbehandelte Bakterien
	in Wasser	in n/100 öls. Kalium	in n/100 öls. Kalium
5	reichlich	vermindert	vermindert
10	„	stark vermindert	„
20	„	stark bis sehr stark vermindert	deutlich vermindert
40	„	38	deutlich bis stark vermindert
60	„	7	stark vermindert
120	„	7	stark bis sehr stark vermindert

Ungleiche Einsaat: Von den mit Lauge vorbehandelten Bakterien waren weniger eingesät.

Tabelle XXXII.
Vorbehandlung mit Kalilauge n/160 (1/2 Stunde).
Davon je 3 Ösen in ölsaurem Kalium n/100 und in Wasser.
Zur Kontrolle 1 Öse gleich dichter Bakterienaufschwemmung, die unvorbehandelt war, in ölsaurem Kalium n/100. (Ölsaures Kalium selbst gefertigt.)

Minuten	I. Mit Lauge vorbehandelte Bakterien		II. Unvorbehandelte Bakterien
	in Wasser	in n/100 öls. Kalium	in n/100 öls. Kalium
20	reichlich	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert
40	„	120	600
60	„	50	400
90	„	40	80
120	„	26	70

Es ist also durch die eben beschriebenen Versuche nicht gelungen, eine Wirkung der Vorbehandlung mit dem einen der beiden Stoffe zu beweisen.

Ein weiterer etwas anders angeordneter Versuch ließ aber doch eine solche Wirkung erkennen. Er beruhte wieder auf einer Vorbehandlung der Bakterien mit Seife, aber diesmal verbunden mit einer Nachbehandlung durch Lauge + Seife. Da die Bakterien auf diese Weise dauernd mit Seife in Berührung blieben, hatten sie nicht wie in den



Tabelle XXXIII.
Ricinolsaures Kalium + Kalilauge mit Vorbehandlung.

	Vorbehandlung mit Seife	ohne Vorbehandlung	Vorbehandlung mit Lauge	ohne Vorbehandlung
Minuten	6 ccm ricinolsaures Kalium (n/100) + 3 Tropfen Bakterienaufschwemmung, nach 1/4 Std. dazu 6 ccm KOH (n/40)	6 ccm KOH (n/40) + 6 ccm ricinolsaures Kalium (n/100), sofort dazu 3 Tropfen Aufschwemmung	6 ccm KOH (n/40), dazu 3 Tropfen Aufschwemm. Nach 1 Minute dazu 6 ccm ricinols. Kal. (n/100)	6 ccm ricinolsaures Kalium + 6 ccm Wasser, dazu 3 Tropfen Aufschwemmung
1	deutlich bis stark vermindert	deutlich vermindert	stark vermindert	reichlich
2	stark bis sehr stark vermindert	deutlich bis stark vermindert	sehr stark vermindert	—
3	sehr stark vermindert	stark bis sehr stark vermindert	desgl.	—
4	400	sehr stark vermindert	desgl.	—
5	200	desgl.	600	reichlich
$7^1/_2$	80	180	160	—
10	12	62	56	—
15	0	4	8	—
20	0	0	1	reichlich
30	0	0	0	—
60	—	—	—	reichlich
120	—	—	—	„

vorigen Versuchen Gelegenheit, die etwa aufgenommene Seife wieder abzugeben. Zur Vorbehandlung diente ricinolsaures Kalium in gänzlich unwirksamer Konzentration.

Drei Tropfen der Bakterienemulsion wurden in 6 ccm n/100 Kalium ricinolat. aufgeschwemmt, nach einer Viertelstunde wurden 6 ccm n/40 KOH hinzugefügt. In einem zweiten Glase wurden erst 6 ccm Seifenlösung und 6 ccm Lauge gemischt, und dann erst die Bakterien hineingetropft. Endlich wurden in einem dritten Glase die Bakterien in 6 ccm n/40 Lauge gebracht. Nach einer Minute wurden die 6 ccm Seifenlösung hinzugegeben. Bei der äußerst wirksamen n/40 Lauge konnte natürlich die Vorbehandlung ohne schwere Schädigung der Bakterien nicht so lange ausgedehnt werden wie bei der unwirksamen Seife.

Der Versuch ergab eine stärkere Wirkung bei den mit Seife vorbehandelten Bakterien. Dagegen war eine Vorbehandlung mit Lauge unwirksam. Da dabei die Bakterien, wenn auch nur kurze Zeit, einer sehr wirksamen Laugenkonzentration ausgesetzt waren, war hier natürlich am Anfang eine stärkere Wirkung vorhanden. Aber im Laufe des Versuches glich sich das völlig aus, und die Abtötung sämtlicher Keime war bei den mit Lauge vorbehandelten Bakterien nicht eher erfolgt, als bei den un-

vorbehandelten. Es ergibt sich also als Resultat des Versuches: Bei einer Abtötung der Bakterien durch Lauge + Seife war es von Vorteil, wenn die an sich unwirksame Seife schon vorher mit den Bakterien in Berührung war. Dagegen war eine vorhergehende kurze Einwirkung von Lauge gleichgültig.

Dies Ergebnis erhöht die Wahrscheinlichkeit unserer Behauptung, daß die Verstärkungswirkung nicht auf Erscheinungen in der Lösung beruht, sondern auf Vorgängen am Bacterium, und daß vermutlich die Seife dazu dient, die Laugenwirkung zu verstärken, und nicht umgekehrt die Lauge eine Seifenwirkung ermöglicht. Dagegen hat auch dieser Versuch keinen Beweis dafür erbracht, daß wirklich eine Präparation der Bakterienzelle durch die Seife stattfindet. Es wird im Gegenteil so zu denken sein, daß die gleichzeitige Anwesenheit von Seife und Lauge am oder im Bacterium nötig ist. Die Erklärung der Wirkung der Vorbehandlung werden wir in der vorher erfolgenden Adsorption der Seife an die Bakterienzelle zu suchen haben.

Um eine Vorstellung davon zu gewinnen, worin diese Einwirkung der Seifen auf die Bakterien zur Aufnahme anderer Stoffe besteht, wurde versucht, die Ergebnisse der Versuche an Bakterien bei roten Blutkörperchen zu reproduzieren, weil bei diesen der Mechanismus der Seifenwirkung besser bekannt ist, und weil man aus einer Parallelität der Resultate auf eine Parallelität der Mechanismen hätte schließen können.

Auch roten Blutkörperchen gegenüber besteht eine Wirksamkeit kleinster Seifenmengen. Indessen verursachen sie schon ohne weitere Zusätze Hämolyse, während sie zur Abtötung des Bacterium coli allein nicht genügen. Es wurde trotz dieses Unterschiedes versucht, ob man nicht durch Kombination von Lauge und Seife eine Verstärkung der hämolytischen Wirkung erzielen könnte.

Als Seife wurde ölsaures Natrium, als Lauge Ammoniak verwendet. Zunächst wurde die Wirkung der Ausgangsstoffe festgestellt, die in den Tabellen XXXIV und XXXV wiedergegeben ist.

Der in diesen Tabellen angegebene Gehalt der Blutaufschwemmungen an den untersuchten Substanzen bezieht sich auf den Gehalt der Gesamtflüssigkeitsmenge von 5 ccm. Diese 5 ccm waren eine einprozentige Aufschwemmung von gewaschenen Hammelblutkörperchen und hatten einen Kochsalzgehalt von 0.85 Prozent.

Eine n/16000-Lösung von ölsaurem Natrium ergab nach 2 Stunden komplette Hämolyse, während Ammoniak noch in n/8-Lösung die Blutkörperchen löste. Nunmehr wurden die beiden Stoffe in verschiedenen Konzentrationen gemischt, die nahe der Grenze der Eigenwirksamkeit waren (s. Tabelle XXXVI). Die Wirkung des Gemisches war nicht stärker als



Tabelle XXXIV. Hämolyse. Ölsaures Natrium.

(Die angegebenen Zahlen beziehen sich auf die Gesamtflüssigkeit von 5 ccm, die zugleich eine 1 prozentige Aufschwemmung roter Hammelblutkörperchen in 0,85 prozentiger Kochsalzlösung ist.) Aufbewahrung bei 37°.

Min.	n/1000	n/2000	n/4000	n/8000	n/16000	n/32000	n/64000
10	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	ganz gelöst	trüb	trüb	trüb
60	desgl.	—	—	—	fast gelöst	Spur gelöst	„
120	—	—	—	—	ganz gelöst	fast gelöst	„

Tabelle XXXV. Hämolyse. Ammoniak.

Anordnung wie bei Tabelle XXXIV.

Min.	n/2	n/4	n/8	n/16	n/32	n/64	n/128
10	ganz gelöst	fast gelöst	halb gelöst	Spur gelöst	trüb	trüb	trüb
60	—	ganz gelöst	fast gelöst	halb gelöst	Spur gelöst	Spur gelöst	Spur gelöst
120	—	—	ganz gelöst	fast gelöst	desgl.	desgl.	desgl.

Tabelle XXXVI. Hämolyse.

Ammoniak + ölsaures Natrium. Anordnung wie bei Tabelle XXXIV.

	Ammoniak 0	Ammoniak n/128	Ammoniak n/64	Ammoniak n/32	Ammoniak n/16
Ölsaures Natrium 0	1 Std.: trüb 2 Std.: „	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	10 Min.: Spur gelöst 1 Std.: halb gelöst 2 Std.: desgl.
Ölsaures Natrium n/128000	1 Std.: trüb 2 Std.: „	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 1 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	
Ölsaures Natrium n/64000	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 2 Std.: „	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	
Ölsaures Natrium n/32000	1 Std.: Spur gelöst 2 Std.: desgl.	1 Std.: trüb 2 Std.: Spur gelöst	1 Std.: Spur gelöst 2 Std.: desgl.	1 Std.: Spur gelöst 2 Std.: desgl.	
Ölsaures Natrium n/16000	10 Min.: trüb 1 Std.: ganz gelöst				10 Min.: trüb 1 Std.: ganz gelöst

die eines Stoffes allein, folglich addieren sich die beiden Substanzen nicht einmal in ihren Wirkungen, d. h. es findet eine Abschwächung statt. Es war also keine Verstärkung der Hämolyse durch Zusammenwirken von Ammoniak und Seife festzustellen. Das stimmt mit dem Befunde von v. Liebermannn[1], sowie von Friedemann und Sachs[2] überein, die bei direktem Zusatz von Natronlauge zur Seife eine Hemmung der Hämolyse fanden.

Weiterhin fand Sachs[3], daß eine Vorbehandlung der roten Blutkörperchen mit oleinsaurem Natrium den momentanen Eintritt der Hämolyse durch allein ganz unwirksame Laugenmengen bewirkt.

Die Seife wirkt also auf rote Blutkörperchen geradezu entgegengesetzt wie auf Bakterien.

Sie ruft ohne Zusatz schon in kleinsten Konzentrationen Hämolyse hervor, übt dagegen eine schwache Desinfektionswirkung aus. Ein Gemisch von Lauge und Seife bewirkt eine leichte Hemmung der Hämolyse, dagegen eine bedeutende Verstärkung der Desinfektionswirkung; wiederum wirkt Vorbehandlung mit Seife stark auf die Blutkörperchen, gar nicht auf die Bakterien. Die hämolytischen Erscheinungen lassen sich also nicht zur Deutung der Desinfektionswirkung heranziehen.

Vielleicht wäre es möglich, einen näheren Aufschluß über die Seifenwirkung noch dadurch zu gewinnen, daß man diese Wirkung an einer größeren Reihe verschiedenartiger Bakterien prüfte. Die bisherigen Versuche waren alle mit Bacterium coli ausgeführt. Nur einmal wurden die Versuchsergebnisse an Staphylokokken nachgeprüft und bestätigt. Es zeigte sich dabei schon ein Unterschied zwischen den beiden Bakterienarten: die Verstärkungswirkung der Seife Staphylokokken gegenüber war noch intensiver als Bacterium coli gegenüber. Um daraus irgendwelche Schlüsse ziehen zu können, müßte man diese Versuche auf die verschiedensten Bakterien ausdehnen. Dann wäre es aber nicht ausgeschlossen, daß auf Grund der verschiedenen Plasmolysierbarkeit oder des verschiedenen Lipoidgehaltes oder auf Grund sonstiger Eigenschaften der Bakterien nähere Aufschlüsse darüber zustande kämen, wie man sich die Vorbereitung der Bakterien durch die Seife zur Aufnahme anderer Substanzen vorzustellen hat.

Zusammenfassung.

Es wurde die Theorie der Kombinationswirkung von Desinfektionsmitteln erläutert und der Begriff der Iso- und Hetero-Addition und der Verstärkung bzw. Abschwächung definiert.

[1] v. Liebermann, zit. nach Friedemann u. Sachs.

[2] Friedemann u. Sachs, *Biochem. Zeitschrift.* 1908. Nr. 12. S. 269.

[3] Sachs, *Biochem. Zeitschrift.* 1908. S. 283.



Die Kombinationswirkung ließ sich zurückführen:

1. Auf chemische Umsetzungen.

Als Beispiel für eine Abschwächung wurde die Kombination von Kalilauge mit Salzsäure und mit Phenol untersucht.

Verstärkungen durch derartige Vorgänge wurden nicht beobachtet. Die Angaben der Literatur über die Wirkung des Gemisches von Schwefelsäure und Kresol konnten durch die vorliegenden Versuche nicht voll bestätigt werden.

2. Auf physikalisch-chemische Veränderungen.

Hierauf beruht die Verstärkung der Phenolwirkung durch Kochsalzzusatz.

3. Auf das Zusammenwirken der unverändert gebliebenen Substanzen.

Hier ließ sich in zwei Fällen durch die Kombination nahe verwandter Substanzen (Phenol und Kresol, Äthyl- und Methylalkohol) Iso-Addition nachweisen.

Ein Beispiel für Hetero-Addition wurde nicht gefunden.

Dagegen wurde in zwei Fällen bei Kombination verschiedenartiger Substanzen (Phenol und Salzsäure, Alkohol und Kalilauge) eine Verstärkung hervorgerufen.

Von dieser Verstärkungswirkung war die der Seifen wegen der fehlenden Eigenwirkung abzutrennen.

Die Verstärkungswirkung der Seifen beruht gleichfalls nicht auf einer gegenseitigen Beeinflussung der Substanzen in der Lösung, sondern sie kommt erst an der Bakterienzelle zum Vorschein.

Sie beruht sehr wahrscheinlich nicht darauf, daß Kalilauge, Phenol und Alkohol am Bacterium eine Seifenwirkung ermöglichen, sondern umgekehrt darauf, daß die Seife auf die Bakterien so einwirkt, daß die anderen Substanzen eine intensivere Wirkung entfalten können.

Diese Wirkung der Seife ist an ihre Gegenwart in der Desinfektionslösung oder wenigstens an der Bakterienzelle gebunden. Sie läßt sich durch eine Vorbehandlung der Bakterien nur dann hervorrufen, wenn die Seife an die Bakterienzelle gebunden bleibt und nicht durch Auswaschen entfernt wird.

Die Wirkung ist nicht dadurch zu erklären, daß die Seife die Oberflächenspannung erniedrigt und dadurch der anderen Substanz das Eindringen in die Zelle erleichtert. Die Oberflächenspannung ist aber insofern von Einfluß, als von ihr die Stärke der Adsorption der Seife und damit der Grad der Wirkung abhängt.

Die Wirkung der Seife auf die Bakterien ist völlig von der auf rote Blutkörperchen zu trennen.



[Aus dem Allgemeinen Krankenhaus Hamburg-Eppendorf.]
(III. Medizinische Abteilung: Oberarzt Dr. F. Reiche.)

Über das Vorkommen von Diphtheriebazillen im strömenden Blut.

Von

Dr. E. **Roedelius.**

Die schwere Diphtherieepidemie, die seit dem Jahre 1910 Hamburg heimsucht, gab reichlich Gelegenheit, an einem großen Material nach den verschiedensten Richtungen hin Untersuchungen anzustellen, und so konnte bereits eine Reihe Arbeiten aus dem Eppendorfer Krankenhause aus dieser Zeit erscheinen, die mit zum Teil neuen und wertvollen Befunden wichtige Beiträge zur Klinik und Pathologie der Diphtherie darstellen.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Ergebnisse der bakteriologischen Blutuntersuchungen niedergelegt werden, die auf der Hrn. Oberarzt Reiche unterstehenden Diphtherieabteilung des Eppendorfer Krankenhauses angestellt wurden, um an einer größeren Untersuchungsreihe über die Häufigkeit des Vorkommens von Diphtheriebazillen im strömenden Blut Aufschluß zu bekommen. Denn daß tatsächlich virulente Diphtheriebazillen im Blut anzutreffen sind, dürfte nach den letzten Untersuchungen an der Leiche sowohl wie auch am Lebenden nunmehr einwandfrei festgestellt sein.

So wurden speziell auch mit dem Material der Reicheschen Abteilung in dem Pathologischen Institut des Krankenhauses (Prof. Eug. Fraenkel) nach dieser Richtung hin bereits Untersuchungen angestellt, und zwar von Bonhoff, der an 300 tödlich verlaufenen Fällen das Herzblut und teilweise auch die Cerebrospinalflüssigkeit der Leiche auf Diphtheriebazillen untersuchte, und von Leede, der in mehreren Arbeiten auf diese Frage eingeht. Letzterer hat, abgesehen von seinen unmittelbar nach dem



Tode des Patienten vorgenommenen Untersuchungen, bereits 18 Fälle mit publiziert, in denen das strömende Blut kulturell verwertet wurde, und die den Anfang dieser größeren klinischen Untersuchungsreihe bilden sollten. Den meisten der bisher gemachten Publikationen über diese Frage sind Untersuchungen an der Leiche zu Grunde gelegt, und durch die dort erhobenen Befunde Rückschlüsse auf die vitale Bakteriämie gemacht, so die Arbeiten von Frosch, Escherich, Reiche, Nowak, Babes, Wright, Pearce, Fraenkel, Schottmüller. Bloch und Sommerfeldt (1900) konnten in fast allen Organen von Diphtherieleichen, einschließlich Blut und Galle, Diphtheriebazillen nachweisen. Bonhoff fand dann an seinen 300 Sektionsfällen 13 mal virulente Diphtheriebazillen im Blut, gleich 4·14 Prozent, und zwar dreimal allein, zehnmal bei gleichzeitig bestehender Bakteriämie mit anderen Bazillen, meist Streptokokken. Er kommt in Übereinstimmung mit den von Simmonds aus dem St. Georger Krankenhaus zu Hamburg erhobenen Befunden, der in einer Untersuchungsreihe von 64 Sektionsfällen kein einziges Mal Diphtheriebazillen fand, und im Gegensatz zu anderen Beobachtern wie z. B. Frosch, der an einem kleineren Material bei 66 Prozent Diphtheriebazillen fand, zu dem Schluß, daß die Bakteriämie mit Diphtheriebazillen ein durchaus seltenes Vorkommnis ist.

Neuerdings haben nun Conradi und Bierast den Versuch gemacht, die technischen Schwierigkeiten der Blutentnahme zu umgehen und gewissermaßen durch eine indirekte Beweisführung das Vorkommen einer vitalen Diphtheriebakteriämie zu bestätigen, nämlich durch Untersuchungen der Urine von Diphtheriekranken. Es wurden von diesen Autoren bei 155 Patienten 55 mal im Urin Diphtheriebazillen nachgewiesen. Beyer fand bei seinen sämtlichen untersuchten Patienten (19) Diphtheriebazillen; Koch mahnt zur Vorsicht bei der Identifizierung der gefundenen „Diphtheriebazillen" und betont die Schwierigkeit der Differenzierung von anderen im Urin nichtdiphtheriekranker Patienten anzutreffenden diphtheriebazillenähnlichen Stäbchen. Verfasser untersuchte drei Fälle mit negativem Erfolg. Koch fand bei 26 Patienten in 111 Urinproben virulente Diphtheriebazillen nur zweimal, doch genügen diese Ergebnisse, um die Annahme einer spezifischen Bakteriämie bei der Diphtherie zu bestätigen. Wichtiger jedoch erscheint uns allemal der direkte Nachweis der Diphtheriebazillen im strömenden Blut, wie er an den vorliegenden Fällen in der üblichen Weise angestellt wurde.

Von den Autoren, die bei Lebenden über positive Erfolge berichten, seien hier erwähnt Niessen, Howard, Roosen-Runge und Mahler. Ferner konnte Hesse intra vitam Diphtheriebazillen aus dem Blut als Sepsiserreger züchten.



Die vorliegenden Untersuchungen erstreckten sich auf 187 Patienten (darunter die 18 von Leede bereits publizierten). Es wurden mit wenigen Ausnahmen nur schwere Fälle herangezogen, die naturgemäß am meisten Aussicht auf einen eventuellen positiven Erfolg zu bieten schienen. Die Technik war die übliche und erscheint uns nicht zu schwierig, um sie durch die zweifellos viel unsicherere „indirekte“ Methode der Züchtung der Bazillen aus dem Urin zu ersetzen. Selbst bei nicht all zu kleinen Kindern läßt sich die Blutentnahme meist ohne besonders große Schwierigkeiten bewerkstelligen und, wie aus der Tabelle hervorgeht, befinden sich unter den untersuchten Patienten etwa ein Drittel Kinder unter 12 Jahren, bis zum dritten Jahr herunter. Man muß sich dann nur mit etwas weniger Blut begnügen, während wir sonst in der Regel 15 bis 20^{ccm} aus der Vene entnahmen. Stets wurden neben Agar und Traubenzuckeragar auch flüssige Nährböden (meist Bouillon) verwendet, die nach 24 stündigem, eventuell längerem Aufenthalt im Brutofen dann regelmäßig auf Löffler- sowie frisch gegossene Blutagarplatten weiter verimpft wurden.

Unter den 187 Fällen konnten wir im Blut nur dreimal Diphtheriebazillen nachweisen (vgl. Übersichts-Tabelle).

Es wurde also insgesamt das Blut von 187 Patienten kulturell untersucht. Dem Lebensalter nach handelte es sich um Patienten vom 3. bis 51. Jahre. Das größte Kontingent stellte entsprechend der Häufigkeit der Erkrankung in diesem Lebensalter die Gruppe zwischen 15 und 25 Jahren. Wie schon eingangs kurz erwähnt, wurden fast ausnahmslos nur schwere und schwerste Fälle untersucht, Patienten, die durch die Ausdehnung der Membranen, die Mitbeteiligung von Nase, Larynx und anderen Organen, sowie durch das Auftreten von Komplikationen das Bild schwerer Allgemeininfektion boten oder geradezu einen septischen Zustand aufwiesen. Ein Blick auf die Tabelle zeigt im einzelnen die Fülle von Komplikation. Insbesondere sei auf die Fälle hingewiesen, bei denen das Auftreten einer hämorrhagischen Diathese das Bild der Sepsis vervollständigte. Nur bei vier Patienten, deren Erkrankung wir nach dem lokalen Befund, wie auch nach dem allgemeinen Verlauf nicht als schwer anzusehen hatten, sondern zu den mittelschweren rechneten, wurden ebenfalls Blutentnahmen gemacht (Nr. 123, 172, 174), dreimal wegen langdauernden hohen Fiebers bei geringem Halsbefund und einmal bei einem Kinde (Fall I), das neben einer mittelschweren Diphtherie eine durch eine infizierte Wuned hervorgerufene Sepsis per Diplococcum lanceolatum bekam.



Übersichts-Tabelle.

Nummer	Name	Protokoll-Nummer	Alter	Geschlecht	Ausgang	Krankheitstag	Todestag	Komplikationen	Nährböden usw. (Blutmenge)	Resultat	Tag der Blutentnahme	Temp. bei der Ausführung (in Grad C)	Leichenblut
1	M.[1]	7853	3	♀	†	3.	6.	Sepsis, infizierte Gesichtswunde	20 ccm Agar-Traub.-Zucker-Agar	Dipl. lanc.	5.	40·4	Staph. aureus
2	S.	6304	8	♂	lebt	2.	—	schwer	Bouillon	steril	2.	40·2	—
3	P.	7358	12	♂	†	6.	6.	Tracheotomie, schwer	„	„	6.	39·4	—
4	S.	104	13	♀	lebt	3.	—	schwer	„	„	8.	39·2	—
5	J.	7164	14	♀	†	3.	12.	Nase, schwer	„	„	7.	37·4	—
6	B.	26780/10	17	♂	†	4.	18.	desgl.	„	„	18.	40·5	—
7	P.	1117	17	♀	lebt	7.	—	Nase, Larynx, schwer	„	„	7.	39·9	—
8	R.	6370	19	♂	„	4.	—	Nase, schwer	„	„	4.	38·2	—
9	P.	20696/10	20	♀	„	2.	—	Larynx, Pneumonie, Tracheotomie, schwer	„	„	8.	38·4	—
10	S.	7426	21	♀	†	3.	5.	Nase, Larynx, schwer	„	„	4.	39·4	—
11	H.	5041	21	♀	lebt	9.	—	Pneumonie, schwer	„	„	10.	40·4	—
12	L.	1297	22	♀	†	3.	43.	Nase, schwer	„	„	5.	38·6	—
13	B.	6866	22	♂	lebt	2.	—	schwer	„	„	3.	37·4	—
14	A.	6513	23	♂	†	6.	6.	„	„	„	6.	39·4	—
15	F.	7488	25	♀	lebt	5.	—	„	„	„	5.	39·6	—
16	T.	3359	32	♀	†	5.	12.	Nase, Larynx, Tracheotomie, schwer	„	„	5.	38·0	—
17	M.	20679/10	37	♀	†	6.	31.	Larynx, Tracheotomie, Pneumonie, schwer	„	„	8.	39·4	—
18	W.	4762	45	♀	†	3.	15.	Nase, Larynx, Pneumonie, Empyem, schwer	„	Streptokokken + Di-Baz.	6.	40·0	Streptokokken
								1911					
19	Riemann	8022	9	♂	†	10.	12.	Nase, Hämorrh., Diathese, schwer	3 ccm auf Löffler in Bouillon und Blutplatte	Di +	11.	unter 37	steril
20	Aude, Paula	8401	4	♀	lebt	4.	—	Nase, Lippe, Hämorrh.-Diathese, schwer	5 ccm	Di +	5.	37·3	—

								chea, Bronchi, schwer					
22	Daden	8820	31	♀	lebt	3.	—	Paresen, schwer	15 ,,	,,	4.	37·8	—
23	Rundt	9004	29	♀	,,	6.	—	Haut (Pemphigus + Di), schwer	15 ,, auch anaerob	,,	10.	38·3	—
24	Feldmann	9007	39	♀	†	4.	10.	Pneumonia croup., Tb. pulmon., Hämoptoe, schwer	10 ccm 15 ,,	,,	4. 11.	39·2 40·5	Sektion verweigert
25	Gerber	9113	44	♂	lebt	5.	—	Larynx, schwer	20 ,,	,,	5.	39·0	—
26	Mencke	9369	18	♂	,,	3.	—	schwer	20 ,,	,,	3.	39·8	—
27	Schröder	9472	29	♀	,,	4.	—	,,	15 ,,	,,	5.	38·8	—
28	Hartmann	9773	20	♂	†	3.	11.	Nase, Larynx, Tracheotomie, schwer	20 ,,	,,	8.	39·0	Streptokokken
29	Tautenhan	10024	24	♀	lebt	4.	—	Paresen, schwer	20 ,,	,,	6.	38·4	—
30	Regener	10928	27	♀	†	3.	6.	schwer	20 ,,	,,	5.	35·5	Dipl. lanc.
31	Strahl	11005	20	♀	†	4.	8.	Larynx, Tracheot., schwer	15 ,,	,,	7.	41·5	Streptokokken
32	Klüver	11476	21	♀	lebt	1.	—	schwer	20 ,,	,,	5.	40·2	—
33	Röper	14190	18	♀	,,	2.	—	Nase, schwer	5 ,,	,,	6.	37·5	—
34	Roßdeutscher	14193	28	♀	†	2.	50.	Herzlähmung, schwer	12 ,,	,,	3.	38·5	steril
35	Lamprecht	14309	13	♀	lebt	4.	—	Nase, schwer	10 ,,	,,	5.	38·8	—
36	Splith	14316	14	♀	,,	1.	—	Nephritis, schwer	10 ,,	,,	4.	37·8	—
37	Roggensack	14339	24	♂	†	4.	5.	Pneumonie, schwer	20 ,,	,,	4.	39·6	Dipl. lanc.
38	Meckelburg	14374	21	♀	lebt	2.	—	schwer	10 ,,	,,	3.	38·9	—
39	Wandrée	14561	28	♀	,,	7.	—	Nephritis, schwer	10 ,,	,,	9.	38·8	—
40	Steinpatt	14604	36	♀	,,	5.	—	schwer	3 ,,	,,	5.	40·0	—
41	Makh	14648	7	♀	†	3.	12.	,,	10 ,,	,,	7.	37·5	—
42	Hoehne	14747	17	♂	lebt	5.	—	,,	10 ,,	,,	5.	37·4	—
43	Schaper	14926	$5^1/_2$	♂	†	2.	6.	,,	10 ,,	,,	3.	40·0	Streptokokken
44	Segel	15023	6	♂	lebt	2.	—	,,	10 ,,	,,	5.	38·1	—
45	Zabel	15093	21	♀	,,	6.	—	,,	15 ,,	,,	6.	37·5	—
46	Schmidt	15095	29	♂	,,	2.	—	,,	15 ,,	,,	2.	37·5	—
47	Reimers	15272	33	♂	†	3.	4.	Larynx, schwer	15 ,,	,,	3.	40·0	Streptokokken + Coli
48	Rowedder	15313	16	♂	lebt	3.	—	Lippen-Diphtherie	15 ,,	,,	3.	38·8	—

[1] Nummer 1 bis 18 schon publiziert bei Leede.

(Fortsetzung.)

Nummer	Name	Protokoll-Nummer	Alter	Geschlecht	Ausgang	Krankheitstag	Todestag	Komplikationen	Nährböden usw. (Blutmenge)	Resultat	Tag der Blutentnahme	Temp. bei der Ausführung (in Grad C)	Leichenblut
49	Blötner	15 457	8	♀	†	2.	6.	Nase, häm. Diathese, schwer	10 ccm	steril	3.	38·0	Streptokokken
50	Leue	15 498	18	♂	lebt	2.	—	schwer	15 „	„	2.	38·5	—
51	Pieper	16 321	24	♀	„	3.	—	Nase, Paresen, Nephritis, schwer	2 Blutentnahm.	„	5. 17.	38·5 39·5	—
52	Meyer	16 398	6	♂	†	1.	15.	Paresen, schwer	10 ccm	„	14.	36·8	steril
53	Schmidt	16 726	8	♂	†	2.	6.	häm. Diathese, schwer	15 „	„	5.	37·0	Sektion verweigert
54	Staute	16 781	12	♀	lebt	5.	—	Nase, Larynx, Zunge, Nephritis, schwer	10 „ 2 Blutentnahm.	„	5. 8.	38·4 38·0	—
55	Ballzuweit	16 964	16	♂	„	4.	—	Paresen, Myocarditis, schwer	20 ccm	„	4.	38·0	—
56	Uhlig	17 230	12	♂	„	2.	—	Nase, schwer	nicht notiert	„	3.	38·5	—
57	Hadebusch	17 323	14	♂	„	3.	—	schwer	10 ccm	„	3.	39·0	—
58	Pfeiffer	17 355	4	♀	†	3.	19.	Nase, schwer	3 „	„	3.	37·8	steril
59	Erdmann	17 425	16	♀	lebt	3.	—	Paresen, schwer	15 „	„	3.	38·5	—
60	Barth	17 531	11	♂	„	2.	—	schwer	15 „	„	3.	38·2	—
61	Rampke	17 546	12	♂	„	3.	—	„	15 „	„	8.	38·4	—
62	Stave	17 621	8	♀	„	3.	—	Nase, schwer	10 „	„	5.	38·2	—
63	Kröger	17 671	5	♂	„	2.	—	„ „	10 „	„	3.	38·7	—
64	Heinssen	17 709	8	♂	†	5.	10.	Nase, häm. Diathese, schwer	10 „	„	5.	39·8	Streptokokken
65	Hartmann	17 721	9	♂	†	5.	25	Nase, Larynx, schwer	15 „	„	5.	39·0	„
66	Lilienthal	17 780	81	♀	†	3.	4.	Morib. recept., schwer	20 „	„	3.	39·0	steril
67	Moritz	17 853	29	♂	lebt	1.	—	schwer	10 „	„	2.	38·0	—
68	Lübcke	17 955	8	♀	„	3.	—	„	15 „	„	3.	38·1	—
69	[illegible]	17 957	8	♀	„	3.	[illegible]	„	10 „	„	3.	[illegible]	[illegible]
70	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

71	Meyer	[illegible]	[illegible]	[illegible]	„	[illegible]		schwer					
72	Koch	18 390	13	♂	„	4.	—	Paresen, schwer	10 „	„	6.	37·9	—
73	Dreßel	18 439	30	♀	„	1.	—	schwer	10 „	„	2.	39·0	—
74	Rathge	18 894	56	♀	„	4.	—	Paresen, Nephritis	15 „	„	4.	38·2	—
75	Kunkel	19 454	8	♂	„	5.	—	Nase, schwer	20 „	„	7.	38·0	—
76	Reimers	19 519	10	♀	†	5.	8.	häm. Diathese, Nase, Tracheotomie, schwer	10 „	„	7.	41·0	Streptokokken + Coli
77	Ahlbrandt	19 768	9	♂	†	2.	8.	Nase, häm. Diathese, schwer	20 „	„	3.	38·7	Streptokokken
78	Montag	19 973	10	♀	†	2.	6.	Nase, schwer,	1 „	„	3.	38·5	„
79	Gronemann	19 998	8	♂	†	2.	8.	Phlegmone am Beine, schwer	9 „	„	?	—	Sektion verweigert
80	Jäger	18 551	12	♂	lebt	3.	—	schwer	15 „	„	?	—	—
81	Dröger	20 475	15	♂	†	5.	6.	„	20 „	Streptokokken	5.	40·0	steril
82	Endenweit	22 852	24	♂	†	4.	16.	Nase, schwer	20 „ 15 „	steril	5. 6.	37·8 37·8	„ „
83	Boldt	22 301	13	♂	lebt	4.	—	„ „	15 „	„	8.	37·8	—
84	Beckendorf	22 728	10	♀	†	3.	12.	„ „	4 „	„	4.	38·0	Streptokokken
85	Tetau	23 187	33	♂	lebt	3.	—	Paresen, schwer	20 „	„	?	—	—
86	Zachow	24 503	28	♂	„	3.	—	Nase, schwer	20 „	„	?	—	—
87	Schuhmacher	24 632	27	♂	„	3.	—	schwer	20 „	„	4.	38·8	—
88	Magnussen	24 916	12	♀	†	4.	4.	Nase, Larynx, schwer	20 „	„	4.	39·0	steril
89	Keil	25 151	9	♂	†	3.	12.	schwer	15 „	„	4.	38·3	Sektion verweigert
90	Schwanitz	25 285	36	♀	†	4.	5.	Nase, Larynx, häm. Diathese, schwer	20 „	„	5.	39·3	steril
91	Burmester	25 532	12	♂	lebt	3.	—	schwer	20 „	„	3.	29·2	—
92	Mohr	26 591	43	♂	†	?	?	Morib. recept., schwer	3 „ in Bouillon	„	Kurve nicht angelegt		steril (sofort †)
93	Jacobsen	27 100	8	♂	†	2.	7.	Nase, schwer	7 ccm	„	5.	38·8	Streptokokken
94	Laudahn	27 219	8	♀	†	3.	4.	„ „	10 „	„	4.	38·0	steril
95	Althaus	27 264	9	♀	†	1.	5.	„ „	15 „	Streptokokken in Bouillon	2.	38·0	Streptokokken
96	Wallesch	22 673	9	♂	lebt	3.	—	Larynx, Zunge, schwer	5 „	steril	5.	38·0	—
97	Müller	15 769	5	♂	†	—	—	Empyem, Paresen, schwer	5 „	Streptokokken	27.	39·3	Streptokokken



(Fortsetzung.)

Nummer	Name	Protokoll-Nummer	Alter	Geschlecht	Ausgang	Krankheitstag	Todestag	Komplikationen	Nährböden usw. (Blutmenge)	Resultat	Tag der Blutentnahme	Temp. bei der Ausführung (in Grad C)	Leichenblut
								1912					
98	Werner	256	17	♂	lebt	1.	—	Nephritis, schwer	15 ccm	steril	2.	38·5	—
99	Paul	407	18	♂	„	2.	—	schwer	15 „	„	2.	40·0	—
100	Semtner	629	13	♂	„	4.	—	Anaphylaxie, schwer	10 „	„	5.	38·2	—
101	Engel	862	21	♂	„	4.	—	Paresen, schwer	15 „	„	5.	37·6	—
102	Plotz	2084	28	♂	„	3.	—	schwer	15 „	„	4.	39·0	—
103	Lass	2480	10	♂	†	5.	17.	„	5 „	„	5.	38·2	Streptokokken
104	Kubin	2592	10	♀	lebt	2.	—	Nase, Paresen, schwer	10 „	„	4.	38·0	—
105	Thurow	2645	11	♀	†	3.	14.	schwer	5 „	„	4.	38·8	steril
106	Seemann	3293	9	♂	†	3.	14.	Nephritis, schwer	5 „	„	4.	37·8	„
107	Schulz	4343	6	♀	†	4.	10.	Genickstarre, Tracheot. Larynx, Tracheot. lingua, schwer	10 „	„	4.	39·8	?
108	Fecher	4428	4	♂	†	4.	10.	Nase schwer	2 „	„	5.	38·4	Streptokokken
109	Koppen	4493	20	♀	†	5.	6.	„ „	20 „	„	5.	40·0	steril
110	Hartleben	4554	10	♂	lebt	3.	—	Paresen, schwer	5 „	„	4.	38·6	—
111	Bretfeld	5063	18	♂	„	2.	—	schwer	20 „	„	3.	38·0	—
112	Peters	5166	33	♂	„	2.	—	„	20 „	„	5.	39·8	—
113	Lange	5702	22	♂	†	6.	14.	Larynx, Nephritis, schwer	10 „	„	6.	38·5	Bact. Coli comm.
114	Barteer	6589	19	♂	lebt	3.	—	schwer	20 „	„	6.	38·0	—
115	Resowski	7285	14	♂	„	3.	—	„	15 „	„	3.	39·2	—
116	Ahrens	7523	34	♀	„	3.	—	Polyarthritis, schwer	15 „	„	5.	37·3	—
117	Banthien	8409	12	♀	„	2.	—	schwer	12 „	„	3.	39·8	—
118	Friese	9873	28	♀	„	5.	—	Paresen, Nephritis, schwer	10 „	„	5.	39·0	—
119	Felten	10234	11	♂	†	3.	7.	häm. Diathese, schwer	10 „	„	4.	38·2	Dipl. lanc. + Streptokokken

121	Koop	11 735	19	♂	„	3.	—	Nephritis, schwer	12 ccm	„	6.	37·3	—
122	Otto	11 833	21	♀	„	4.	—	„ „	?	„	6.	38·0	—
123	Köller	12 922	27	♀	„	3.	—	mittelschwer	15 ccm	„	3.	40·5	—
124	Pott	14 201	11	♀	„	3.	—	Nephritis, schwer	15 „	„	5.	38·3	—
125	Koch	14 632	24	♀	„	3.	—	schwer	18 „	„	3.	40·0	—
126	Wiese	15 694	12	♂	†	4.	7.	Nase, häm. Diathese, Larynx, Trach., Nephritis, schwer	10 „	„	5.	39·0	steril
127	Eschweiler	15 738	33	♀	lebt	2.	—	schwer	15 „	„	4.	38·8	—
128	Butt	15 868	26	♂	„	2.	—	„	15 „	„	3.	37·3	—
129	Sager	16 016	28	♂	„	2.	—	„	15 „	„	3.	37·1	—
130	Heyne	16 343	28	♂	„	3.	—	Paresen, schwer	15 „	„	3.	38·4	—
131	Möller	17 439	32	♂	„	3.	—	schwer	15 „	„	4.	36·0	—
132	Westphal	17 475	16	♀	„	1.	—	„	15 „	„	3.	39·0	—
133	Müller	17 537	7	♀	†	3.	6.	Nase, schwer	15 „	„	4.	38·1	steril
134	Zeppelin	18 300	7	♂	†	8.	13.	Paresen, Nephritis, schwer	6 „	„	8.	36—37	Dipl. lanc.[1]
135	Korn	18 317	9	♀	lebt	2.	—	„ „ „	15 „	„	3.	37·8	—
136	Beu	18 489/11	10	♂	„	4.	—	schwer	—	„	4.	39·8	—
137	Ihde	18 682	9	♂	†	4.	8.	Nase, Nephritis, häm. Diathese, schwer	15 ccm	„	4.	37·5	steril
138	Gröger	18 872	6	♂	†	2.	20.	Nephritis, schwer	15 „	„	3.	38·0	„
139	Stöwsand	18 875	8	♂	†	2.	7.	häm. Diathese, Nephritis schwer	15 „	„	2.	39·6	„
140	Schröder	18 959	10	♂	lebt	2.	—	Paresen, Nephritis, schwer	15 „	„	2.	38·5	—
141	Plickat	19 185	7	♂	†	2.	5.	Nephritis, schwer	10 „	„	2.	40·0	Sektion verweigert
142	Henkhaus	19 236	8	♂	lebt	4.	—	schwer	6 „	„	6.	37·8	—
143	Kohsatz	19 355	7	♂	†	3.	10.	Nephritis, Nase, häm. Diathese, schwer	8 „	„	3.	39·0	steril
144	Wiese	19 765	38	♂	†	2.	39.	Nase, Paresen, schwer	20 „	„	3.	38·3	„
145	Nielsen	19 993/11	19	♀	lebt	8.	—	Nase, Larynx, Trach., Pneumonie, schwer	15 ccm 15 „ 2 mal	„	8. 13.	40·0 39·5	—
146	Schenkel	20 354	20	♀	†	4.	15.	Nase, Nephritis, schwer	20 ccm	„	5.	38·3	steril

[1] Abgelaufener Fall!

(Fortsetzung.)

Nummer	Name	Protokoll-Nummer	Alter	Geschlecht	Ausgang	Krankheitstag	Todestag	Komplikationen	Nährböden usw. (Blutmenge)	Resultat	Tag der Blutentnahme	Temp. bei der Ausführung (in Grad C)	Leichenblut
147	Frost	20 466	44	♀	lebt	2.	—	schwer	20 ccm	steril	3.	38·8	—
148	Körner	20 852	9	♂	„	1.	—	Larynx, Bronchopneum. schwer	15 „	„	3.	39·8	—
149	Knoll	21 337	9	♂	†	3.	8.	Nephritis, hämorrh. Diathese, schwer	10 „	„	4.	38·9	Streptokokken
150	Kleinschmidt	21 567	48	♀	lebt	3.	—	schwer	15 „	„	3.	40·0	—
151	Weltzien	21 476	26	♂	„	2.	—	schwer	20 „	„	2.	37·8	—
152	Nielandt	22 253	16	♂	†	2.	4.	Larynx, Tracheotomie, schwer	15 „	„	2.	38·1	Streptokokken
153	Stührs	22 463	29	♂	lebt	3.	—	„	20 „	„	3.	39·8	—
154	Speth	22 511	23	♀	„	3.	—	Nephritis, schwer	20 „	„	5.	38·3	—
155	Homann	24 047	24	♂	„	2.	—	schwer	20 „	„	2.	38·8	—
156	Angerhausen	25 096/11	47	♂	„	3.	—	Paresen, schwer	20 „	„	3.	37·4	—
157	Schlack	25 355	34	♀	„	3.	—	Nephritis, schwer	15 „	„	4.	38·8	—
158	Bohlen	25 457	10	♂	„	3.	—	Paresen, schwer	? „	„	3.	38·5	—
159	Behnke	25 554/11	19	♂	„	2.	—	Polyarthritis, Pneumonie, schwer	20 „	„	6.	38·9	—
160	Lehmann	26 897	35	♀	†	5.	9.	„	15 „	„	6.	39·6	Proteus
161	Splitt	26 528/11	29	♀	lebt	6.	—	Nase, Lippen-Diphtherie schwer	20 „	„	6.	39·0	—
162	Deinert	26 578/11	19	♀	„	3.	—	„	20 „	„	3.	39·0	—
163	Bonck	27 211/11	6	♂	†	3.	?	Abszesse, Nephritis Urämie, schwer	10 „	„	4.	38·0	Streptokokken
164	Thies	27 283/11	6	♀	lebt	8.	—	Nase, Larynx, Abszesse, schwer	10 „	„	9.	40·2	—
165	Albrecht	27 810	10	♀	†	8.	7.	Nase, Nephritis, hämorrh. Diathese, schwer	? „	„	4.	38·0	steril



166	Hansen	27 844/11	18	♀	lebt	2.	—	Paresen, schwer	15 ccm	„	4.	38·8	—
									20 „		24.	39·4	
167	Wolgast	26 920	11	♂	„	4.	—	schwer	? „	„	5.	40·0	—
168	Meibaum	26 980	10	♂	„	3.	—	Nephritis, Paresen, schwer	? „	„	4.	39·8	—
169	Steffens	28 453	8	♀	„	2.	—	Nase, schwer	? „	„	3.	38·2	—
170	Stapelfeldt	26 829	5	♂	„	2.	—	Paresen, Pneumonie, schwer	? „	„	2.	39·0	—
171	Scharfenstein	9464/11	12	♀	„	2.	—	Paresen, schwer	10 „	„	2.	39·2	—
172	Lettau	24 159/11	22	♀	„	2.	—	Pneumonie, mittelschwer	15 „	Streptokokken	8.	40·0	—
										„ in Bouillon	11.	41·0	
										steril	18.	40·0	

1913

173	Kasten	151	22	♂	lebt	2.	—	Nase, schwer	20 ccm	steril	2.	40·0	—
174	Jäger	1168	18	♀	„	2.	—	lange Zeit hohes Fieber, leicht	20 „	„	5.	40·5	—
										„	17.	39·0	
										„	19.	40·5	
175	Kleophas	1176	23	♀	„	3.	—	Paresen, schwer	15 „	„	4.	38·8	—
176	Fliegener	2225	19	♀	„	2.	—	Auge, schwer	20 „	„	3.	39·2	—
177	Thoms	3813	20	♂	„	3.	—	schwer	20 „	„	3.	37·3	—
178	König	5008	15	♀	†	3.	13.	Nephritis, schwer	15 „	„	4.	39·0	Streptokokken
179	Ehlers	5077	40	♂	lebt	3.	—	Nase, schwer	20 „	„	4.	38·3	—
180	Schrader	5241	18	♀	„	5.	—	schwer	15 „	„	5.	37·5	—
181	Hastedt	5478	14	♂	†	3.	9.	Nase, Nephritis, schwer	20 „	„	4.	39·0	steril
182	Blaschke	6219	40	♀	†	3.	20.	Streptokokken-Sepsis, Nephritis, schwer	20 „	Streptokokken	19.	41·0	Streptokokken
183	Toth	6355	27	♀	lebt	5.	—	schwer	? „	steril	5.	38·2	—
184	Kamin	6452	13	♂	†	3.	13.	Nase, schwer	10 „	„	4.	38·0	steril
185	Kamin	6516	51	♀	lebt	2.	—	Nephritis, schwer	? „	„	3.	39·8	—
186	Schümann	7042	20	♂	„	3.	—	Polyarthritis, schwer	20 „	„	3.	39·0	—
187	Eggert	7974	14	♂	„	1.	—	schwer	20 „	„	2.	38·8	—

In der Mehrzahl der Fälle (etwa 140) wurde die Blutentnahme bald nach der Aufnahme, jedenfalls aber innerhalb des 1. und 2. Tages des Krankenhausaufenthaltes gemacht, im übrigen an späteren Tagen, wenn es sich herausstellte, daß der Prozeß fortschritt, und die Schwere der Krankheitserscheinungen zunahm. Schließlich wurden noch solche Fälle herangezogen, die, an späteren Krankheitstagen befindlich, durch erneutes Fieber, Hinzutreten von Komplikationen oder durch Einsetzen schwerer toxischer Erscheinungen dokumentierten, daß die Infektion noch nicht abgelaufen sei. Bei einigen Patienten wurde zwei- bzw. dreimal das Blut zur Kultur entnommen (Nr. 24, 51, 54, 82, 120, 145, 166, 172, 174), da auch, wie bei anderen Infektionskrankheiten (Pneumonie usw.), mit dem Vorkommen einer temporären Bakteriämie gerechnet werden mußte. Sämtliche Fälle wiesen bzgl. der Diphtheriebazillen ein negatives Resultat auf.

Die Höhe der **Temperatur** war nicht maßgebend für die Anstellung der Untersuchung, da ja bekanntermaßen schwere septische Diphtherien mit normalen oder Untertemperaturen einhergehen können. So zeigen auch die an unseren Patienten am Tage der Blutentnahme als Tagesmaximum registrierten Ziffern in der Mehrzahl Temperaturen um 37 und 38° und darunter, gegenüber den hohen oder hyperpyretischen Werten.

Über die drei Fälle mit intra vitam positiven Diphtheriebazillenbefund mögen die wichtigsten Daten aus der Krankengeschichte mitgeteilt werden.

Im ersten Fall (18) handelt es sich um eine 45jährige Frau am 3. Krankheitstag mit schwerer Rachen-, Nasen- und Kehlkopfdiphtherie. Temperatur bei der Aufnahme 40°. In der am 6. Tage gemachten Blutentnahme wuchsen Streptokokken und Diphtheriebazillen.

Die Patientin starb am 15. Krankheitstage, nachdem noch eine Pneumonie und Empyem hinzugetreten waren.

Fall 2 (19), aufgenommen 18. IV. 11, am 10. Krankheitstag. 9jähriger, sehr elender Knabe in sehr erschöpftem Zustand. Zahlreiche Hautblutungen. Der diphtherische Prozeß nimmt die ganze hintere Rachenwand ein. Die Beläge haben ein schmieriges, teilweise hämorrhagisches Aussehen. Nase von Membranen erfüllt. Starker Fötor. Temperatur 36·8°, Puls klein, weich, intermittierend.

19. IV. 11. Kind, völlig apathisch und fast reaktionslos. Hautblutungen noch stärker, Blutung aus der Nase, Puls nicht mehr fühlbar. 20. IV. abends Exitus letalis.

In der noch am Abend der Aufnahme vorgenommenen Blutentnahme wurden Diphtheriebazillen nachgewiesen.

Aus dem Sektionsprotokoll: Tonsillitis. Pharyngitis pseudomembranacea. Bronchopneumonie lob. inf. d. Pleuritis exsudativa lob. inf. d. Pleuritis fibr. pulm. sin. Bronchitis et Tracheitis purulenta.



Fall 3 (20), aufgenommen 23. IV. 11. 4jähriges zartes Kind in elender Verfassung, am 4. Krankheitstag. Der schwere diphtherische Prozeß nimmt den ganzen Pharynx ein. Aus der Nase fließt unaufhörlich ein dünnflüssiges Sekret, das Diphtheriebazillen in Reinkultur enthält. Dicke Halsdrüsenpakete. Temperatur 37·3°, Puls kaum fühlbar. Blutentnahme: 5 ccm in Bouillon.

24. IV. 11, völlige Apathie, Zustand erscheint absolut hoffnungslos.

25. IV. 11, aus der Bouillon auf Löfflerplatten Diphtheriebazillen gewachsen.

26. IV. 11, Auftreten von Hautblutungen an verschiedenen Körperstellen. Starkes Nasenbluten.

Durch dauernde Exzitantien ist es gelungen, die Herzkraft etwas zu heben. Heute gelingt es, dem Kinde etwas Nahrung zuzuführen.

Aus dem weiteren Verlauf ist dann mitzuteilen, daß das Kind sich ganz allmählich aus dem schweren septischen Zustand wieder erholte und am 66. Krankheitstag geheilt entlassen werden konnte.

Nebenbei mag hier erwähnt werden, daß diese von den seit 1910 bis 1912 im Eppendorfer Krankenhaus behandelten mehreren 1000 Diphtheriefällen unter allen hämorrhagischen Diathesen die einzige ist, die durchgekommen ist. Die hämorrhagische Diathese bietet im übrigen eine fast absolut infauste Prognose.

Aus den vorstehenden Krankengeschichten geht zur Genüge hervor, daß es sich um Diphtheriefälle schwerster Art handelte, von denen zwei in Kürze zum Tode führten, und auch der dritte nahezu hoffnungslos erschien, zumal als noch die hämorrhagische Diathese hinzutrat. Dieser Fall kam durch, und es hat sich somit gezeigt, daß eine Diphtheriebazillenbakteriämie an sich nicht einen letalen Ausgang bedingt. Bzgl. der Temperatur sei auch hier bemerkt, daß sie beim letzten Patienten nahezu normal war, während die erste Patientin eine hohe Temperatur aufwies.

Es möge in Kürze noch auf die übrigen bakteriologischen Befunde eingegangen werden, zugleich unter Berücksichtigung des Leichenblutes.

Bakteriämien mit anderen Erregern wurde intra vitam 7 mal festgestellt (1, 18, 81, 95, 97, 172, 182), und zwar wurde gefunden:

Diplococcus lanceolatus . . . . . . 1 mal,
Streptococcus pyog. . . . . 5 mal,
Streptococcus neben Diphtheriebazillen . 1 mal.

Die Fälle seien kurz skizziert:

Fall 1, das bereits oben erwähnte 7jährige Mädchen, das neben seiner mittelschweren Diphtherie eine verschmutzte Abschürfung im Gesicht aufwies. Unter rapide fortschreitenden Erscheinungen bildete sich eine Sepsis mit hohem Fieber aus, mit dem Dipl. lanc. als Erreger.

Bezüglich Fall 18 kann auf die oben erwähnte Krankengeschichte verwiesen werden.

Fall 81, ein 15jähriger Knabe, am 5. Krankheitstag mit schwerem Diphtherieprozeß, der unter hohem Fieber und Bewußtlosigkeit wenige Stunden nach der Aufnahme ad exitum kam. Aus dem Blut in Bouillon Streptokokken.

Fall 95, 9jähriges Mädchen, am 1. Krankheitstag mit schwerer Diphtherie aufgenommen. Unter Benommenheit am 5. Tag gestorben. Am 2. Krankheitstag aus dem Blut Streptokokken.

Fall 97, 5jähriger Knabe, bei dem sich im Anschluß an eine schwere Diphtherie mit Drüsenabszessen eine Pneumonie und Empyem anschloß. Im Blut Streptokokken.

Fall 172, 22jähriges Mädchen, mit schwerem Halsbefund, hoher Continua und elendem Allgemeinzustand. In zwei Blutentnahmen Streptokokken nachweisbar. Später Gelenkerscheinungen und Pneumonie. Heilung.

Fall 182, 40jährige Frau, bekommt in der Rekonvaleszenz eine Streptokokkensepsis.

Wie verhält sich in diesen Fällen nun die Leichenblutuntersuchung?

Fall 1 ergab Staphylokokken, 18 nur Streptokokken.

Fall 81 blieb steril, 172 war geheilt.

Bei den drei übrigen Patienten stimmte strömendes und Leichenblut überein.

Und nun zu den übrigen Fällen mit tödlichem Ausgang.

Es starben von den 187 Patienten 70. In 26 Fällen blieb das Leichenblut steril, 28 mal war es keimhaltig, sechs Sektionen wurden verweigert, zweimal war das Ergebnis fraglich.

Zunächst unsere positiven Diphtheriebazillenfälle. Fall 18 wies im Leichenblut nur Streptokokken auf. Fall 19 war steril. Der dritte Fall war geheilt. Im übrigen wurde gefunden:

Streptokokken	19 mal,	
Diplococcus lanceolatus . .	3 mal,	dabei eine Pneumonie,
Streptococcus und Dipl. lanceol.	1 mal,	
Streptococcus und Coli . . .	1 mal,	
Coli allein	1 mal.	

Diphtheriebazillen wurden in diesem Material in keinem Falle im Leichenblut gefunden.

Auf die noch immer erörterte Frage der Leichenblutbefunde in ihren Beziehungen zu den vitalen Bakteriämien kann hier nicht eingegangen werden. Mancherlei Zufälligkeiten und ungeklärte Vorgänge mögen bei den einzelnen zum Teil recht merkwürdigen Befunden mitspielen, die wir hier lediglich als Tatsachen registrieren möchten. Uns lag vor allem



daran, die an einer immerhin beachtenswert großen Untersuchungsreihe gewonnenen Erfahrungen bekannt zu geben. Wir fassen die Ergebnisse folgendermaßen zusammen:

Unsere Untersuchungen bestätigen das Vorkommen von Diphtheriebazillen im strömenden Blut.

Die Diphtheriebakteriämie gehört zu den größten Seltenheiten (unter 187 Fällen mit 196 Blutentnahmen nur 3mal).

Sie braucht an sich nicht zum Tode zu führen.

Die Diphtheriebazillen können schon tagelang vor dem Tode im Blute kreisen.

Es gibt eine temporäre Bakteriämie, wie aus den Leichenblutbefunden hervorgeht.

Letztere bestätigen ebenfalls die Seltenheit des Vorkommens der Diphtheriebazillen im Blut (unter 70 Fällen des vorliegenden Materials keinmal).

Literatur.

Kolle-Wassermanns *Handbuch.* II. Ergänzungsband.

Baginsky, Die Diphtherie. Nothnagels *Spez. Pathologie u. Therapie.* 1913. In beiden Bänden ausführliche Literaturangaben.

Bonhoff, Über das Vorkommen von virulenten Diphtheriebazillen im Blut und in der Cerebrospinalflüssigkeit des Menschen. *Diese Zeitschrift.* 1910. Bd. LXVII.

Leede, Bakteriologische Blutbefunde bei Diphtherie. *Ebenda.* 1911. Bd. LXIX.

Conradi u. Bierast, Über Absonderung von Diphtheriekeimen durch den Harn. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 34.

Koch, Zur Bedeutung des Vorkommens von Diphtheriebazillen im Harn. *Ebenda.* 1912. Nr. 50.

Beyer, Diphtheriebazillen im Harn. *Münchener med. Wochenschrift.* 1913. Nr. 5.

Leede, Beiträge zur Diphtherie. *Zeitschrift f. klin. Med.* Bd. LXXVII. S. 3 u. 4.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin,
Abteilung des stellvertretenden Abteilungsvorstehers Prof. Dr. Römer.]

Beitrag zur Kenntnis der Diphtherie- und der sogenannten Pseudodiphtheriebazillen.

Von

Karl E. F. Schmitz,
Assistent am hygienischen Institut.

I. Kurzer literarischer Überblick.

Der Streit um den echten und den falschen Diphtheriebacillus besteht nun schon über zwei Jahrzehnte, ohne daß es bisher geglückt wäre, die Entscheidung endgültig zu treffen. Von den Entdeckern des sogenannten Pseudodiphtheriebacillus, v. Hofmann-Wellenhof (2) und Löffler (1), war dieses Stäbchen als ein Lebewesen eigener Art aufgefaßt und beschrieben worden, es sollte wohl mit dem Löfflerschen Bacillus in eine große Gruppe gehören, im übrigen aber von ihm scharf geschieden sein.

Die nächstfolgenden Untersucher pflichteten meist diesem Urteil zu. Dabei flossen zunächst die Berichte über den Pseudobacillus nur spärlich, galt es doch zu jener Zeit vor allen Dingen die krankmachende Wirkung des echten Löfflerstäbchens zu umreißen. [Außer den klassischen Arbeiten Löfflers (1) siehe Kolisko und Paltauf (3), Ortmann (4), Roux und Yersin (5), Zarniko (6) und Spronck (7).] Besonders die letztgenannten Autoren bestätigen die Unterschiede zwischen den beiden Stäbchen, und Zarniko meinte, ein gutes Unterscheidungsmerkmal in der Fähigkeit des Pseudodiphtheriebacillus, Bouillon zu trüben, entdeckt zu haben, eine Fähigkeit, die echten Löfflerschen Bazillen abgehen sollte.



Da veröffentlichten die schon genannten französichen Forscher Roux und Yersin im Jahre 1890 eine ganz neue Auffassung von dem Wesen der Dinge und erregten dadurch um so gewaltigeres Aufsehen, als sie durch ihre grundlegenden Studien über das Diphtherietoxin als Autoritäten in diesem Spezialgebiete galten.

Sie glaubten durch ihre Arbeiten bewiesen zu haben, daß die sogenannten Pseudodiphtheriebazillen nichts anderes seien als degenerierte Löfflersche Stäbchen; konnten sie doch durch verschiedene Einwirkungen solchen Löfflerstäbchen ihre Haupteigentümlichkeiten, besonders die Virulenz nehmen und sie sozusagen zu Pseudodiphtheriebazillen verwandeln. Auch den umgekehrten Weg hatten sie beschritten und hatten mit gewissem Erfolge eine Virulenzsteigerung einiger schwach krankmachender Pseudostämme erzielen können, indem sie Streptokokken zumischten. In der Folge wollte Trumpp (8) sogar ganz avirulente Stäbchen durch Zugabe von echtem Diphtherietoxin so virulent gemacht haben, daß sie schließlich Tiere zu töten vermochten.

In Frankreich faßte diese Idee bald festen Boden. Ja, die Schule von Roux und Yersin unterschied fortab nicht mehr zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriestäbchen, sondern (Martin) nur zwischen bacille long, moyen und court.

Nicht so in Deutschland. Hier herrschte vorläufig noch die ältere dualistische Anschauung und fand außer in den schon genannten besonders in Escherich (9), Beck (10) und anderen tatkräftige Verteidiger. Aber nach und nach gewann auch in Deutschland die Einheitsanschauung immer mehr Boden. Als einer der ersten bekannte sich C. Fränkel (11) als ihr Anhänger, und bald folgte eine Reihe anderer Forscher. Um die Wende des Jahrhunderts trat dann v. Behring (12), fußend auf der Einheitslehre, mit der neuen Anschauung hervor, daß das Phänomen der natürlichen Immunität, wie sie des öfteren bei gesunden Menschen nachgewiesen wurde, durch auf den Schleimhäuten vegetierende Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebazillen hervorgerufen sei, ohne daß die betreffenden Menschen eine Erkrankung durchgemacht hätten.

So standen sich zu jener Zeit die beiden Meinungen schroff gegenüber, ohne daß eine der beiden Parteien entscheidende Beweise für die Richtigkeit ihrer Anschauungen beibringen konnte. Tatsächlich waren ja auch die Unterschiede zwischen den echten und falschen Diphtheriebazillen zu groß, um übersehen zu werden, zu klein, um ausschlaggebend in die Wagschale zu fallen. Es stützte sich die Diagnose D.B. oder Ps.-DB. lediglich auf den mikroskopischen Anblick der Bazillen, ob sie schlank und keulenförmig oder ob sie kurz und plump waren, und auf die Er-



fahrungstatsache, daß man mit den Stäbchen der letzteren Art niemals Meerschweinchen töten konnte.

Aber das wollte nicht viel besagen. Denn es waren auch häufig Bazillen gefunden worden, die nach ihrem Aussehen ganz und gar als echte Diphtheriebazillen erschienen, die aber im Tierversuche sich doch vollständig avirulent zeigten. Alle Kulturmerkmale hatten sich als trügerisch erwiesen. Besonders die von Roux und Yersin entdeckte, von Zarniko und anderen als stetiges Merkmal der echten Diphtheriebazillen angegebene Säureproduktion in Bouillon konnte einer näheren Kritik nicht standhalten. Es fanden sich eben Pseudostämme, die auch Säure produzierten [C. Fränkel (11), Schanz, Peters u. a.]. Deshalb empfahlen Escherich, Peters und besonders Neisser (13) die quantitative Titration, da die „echten" eben immer noch mehr Säure bilden sollten als die „falschen". Aber einerseits berichtet Neisser selbst über einen diphtheroiden (Xerose-) Stamm, der ähnlich hohe Säuregrade erreichte, und dann hatte Spronck (7) schon 1897 festgestellt, daß es auch echte toxinbildende Diphtheriebazillen gab, die überhaupt keine Säure, sondern von Anfang an Alkali bildeten. Es war also tatsächlich das Aussehen, die Form der Diphtheriebazillen, die bei der Diagnose den Ausschlag gab, und berücksichtigt man, daß auch die echten virulenten Diphtheriebazillen in ihrer Form durchaus nicht alle übereinstimmen, wie schon Zarniko 1889 gefunden hatte, so kann man verstehen, daß ein sachgemäßes Urteil außerordentlich schwer war. Um die Verwirrung noch zu vergrößern, erschienen gerade in dieser Zeit verschiedene Arbeiten, die auch die Einheit einmal der Pseudobazillen in Frage stellten [Axenfeld (14), Kurth (15), de Simoni (16), Gromakowsky (17)], dann aber auch die Einheit des eigentlichen Löfflerschen Bacillus angriffen [Zupnik (18)]. Letzteres konnten aber Slawyk und Manikatide (19) strikt zurückweisen. Zum Überflusse mehrten sich noch zur gleichen Zeit die Angaben über eine gewisse Virulenz des sogen. Pseudodiphtheriebacillus.

Es erschien daher wie eine rettende Tat, als es Max Neisser (13) 1897 gelang, durch eine neue Darstellungsweise der von Babes (20) und Ernst (21) entdeckten metachromatischen Körnchen ein differentialdiagnostisch wichtiges Zeichen zu entdecken.

Zur selben Zeit zeigte überdies Spronck (7), daß die „Virulenz" der Pseudodiphtheriebazillen sich nicht durch Antitoxin-Beimischung neutralisieren ließ, und zog daraus den Schluß, daß diese Virulenz und die des echten Löfflerstäbchens nicht nur gradweise, sondern auch grundverschieden sei. Diese zwei wichtigen Entdeckungen bestimmten daher auch alsbald einen der ersten Vorkämpfer des Einheitsgedankens, C. Fränkel (11) zum Übertritt. Es folgte die Mehrzahl der Bakteriologen, die Einheitstheorie schien erledigt und abgetan [Heinersdorf (22) und viele andere].



Aber bald regte sich doch wieder der Zweifel. Noch im selben Jahre der Entdeckung Neissers teilte Kurth (15) mit, daß er drei Stämme gefunden habe, die auf keine Weise nach Neisser zu färben waren und die doch volle Meerschweinchenvirulenz besaßen, deren Gift sich außerdem durch die Antitoxinkontrolle als echtes Diphtheriegift erwies. Fränkel (11) fand zwar keine echten Diphtheriebazillen ohne Körnchenfärbung, wohl aber einige Pseudodiphtheriebazillen, die sich positiv nach Neisser färbten. de Simoni erhielt ebenfalls mit der Neisserfärbung nicht immer befriedigende Resultate (16). Spirig (23) kam auf Grund epidemiologischer Erwägungen zu dem Schlusse, daß „der Diphtheriebacillus in den Einzelfällen einer Epidemie alle Übergänge vom Pseudodiphtheriebacillus der Autoren bis zum typischen Löfflerstäbchen aufweisen kann", daß ferner „die Neissersche Körnchenfärbung wie die übrigen Differenzierungsmethoden nicht von absolutem Werte sei". Gromakowsky (24) kam auf Grund des Studiums von 81 Pseudostämmen zu den Schlusse, daß „die Methode der Färbung nach Neisser die Richtigkeit der Diagnose Diphtherie nicht sicher darstelle, da Pseudodiphtheriestäbchen existieren, die die gleichen Resultate der Färbung liefern". Deshalb fand er Kontrollversuche an Tieren notwendig.

Aber auch von der Gegenseite fehlen die Berichte nicht. R. O. Neumann (25) z. B., der bei der Untersuchung von gesunden und kranken Nasen den Pseudodiphtheriebacillus in normalen Nasen in 98 bis 100 Prozent, in kranken Nasen in 97 Prozent der Fälle gefunden hatte, prüfte 78 Stämme Pseudodiphtheriebazillen durch den Tierversuch. Er sah kein einziges Meerschweinchen sterben. Die Körnchenfärbung dagegen fand auch er nicht immer ganz typisch.

Die dualistische Auffassung erstarkte indes immer mehr in den folgenden Jahren. Sie wurde gestützt durch die Befunde einiger Autoren, die in der Agglutination durch spezifisches Serum ein geeignetes Unterscheidungsmittel fanden [Lubowsky (26), Schick und Ersettig (27) u. a. m.]. Die schon erwähnte Fähigkeit des Diphtheriebacillus, Säure zu bilden, wurde ebenfalls weiter untersucht, und man stellte fest, daß die Vergärungsmöglichkeit von Traubenzucker ein geeignetes Mittel zur Unterscheidung sei. Es führte das zur Herstellung von Traubenzuckernährböden, denen ein Indikator (Lackmus) zugesetzt war, sowohl flüssiger [Thiel (28)] wie fester [Rothe (29)]. Daß aber auch auf diesem Wege nicht ganz grundlegende Unterschiede festzustellen waren, geht aus den Mitteilungen des letztgenannten Autors hervor, der auch bei Pseudodiphtheriebazillen eine allerdings nur schwache und vorübergehende Säurebildung konstatieren konnte.

Praktisch stehen in den letzten Jahren wohl alle Untersuchungsämter auf dem Standpunkte, daß nur das als echter Diphtheriebacillus zu betrachten ist, was sich in Form und Färbbarkeit als typisch erweist. Aber eben

wegen der Unsicherheit dieser beiden Argumente (bildet doch die Diphtheriediagnose in dieser Beziehung ein Unikum in der ganzen Bakteriologie) begrüßte man es sehr, als Conradi und Troch (30) 1912 in der Tellurplatte ein neues kulturelles Differenzierungsmittel angaben. Aber auch diese wurde zur Beurteilung der Streitfrage nicht entscheidend. Conradi und Troch selbst sprachen schon in ihrer ersten Veröffentlichung von einem „Aufrühren der alten Streitfrage durch die Tatsache, daß in Ausstrichen von echten Diphtherien echte Diphtheriebazillen (schwarz) und Pseudodiphtheriebazillen (grau) nebeneinander auf der Tellurplatte erscheinen".

Überdies mehren sich die Berichte von Mutation der Diphtheriebazillen [Bernhardt und Paneth (31), Jakobsthal (32)], so daß die Frage nach der Stellung der Diphtheroiden zu den echten Diphtheriebazillen noch immer nicht völlig geklärt erscheint.

Der Standpunkt der Dualisten wird von Neisser ungefähr folgendermaßen präzisiert:

Man unterscheidet auf Grund der Reinkultur:

A. I. Typische und virulente Diphtheriebazillen.

Typische, das sind unbewegliche, grampositive Bazillen, deren charakteristische Form schon von Löffler, Zarniko und anderen eingehend beschrieben ist, die nach 9 bis 24 Stunden Serumkultur die Neissersche Doppelfärbung annehmen, die im tiefen Agarstich gut wachsen, in gewöhnlicher Bouillon viel Säure bilden, Dextrose, Fruktose und Mannose zersetzen und schließlich auf dem Tellurnährboden schwarze Kolonien bilden (letzteres nicht definitiv verwertbar).

II. Typische und avirulente Stämme (selten).

Das sind solche Bazillen, die alle Charakteristika der Gruppe I besitzen, aber von jenen dadurch geschieden sind, daß sie im Tierversuch sich als nichtpathogen erweisen.

B. Atypische und avirulente.

Bazillen, die avirulent sind und außerdem noch in einem Punkte (Form oder Färbbarkeit oder Wachstum oder Säurebildung) vom typischen Bilde abweichen (sehr selten).

C. Diphtheroide.

Das sind avirulente und in mehr als einem Punkte abweichende Bazillen.

Ein Blick auf diese Zusammenstellung zeigt, daß eigentlich nur eine Form fehlt, um eine Einheit des Ganzen herstellen zu können, nämlich eine Gruppe zwischen A und B, atypische und virulente Bazillen.



Gelänge es, solche Stämme zu finden, dann wäre eben jener Übergang gefunden, und damit die Wahrscheinlichkeit einer Einheit näher gerückt. Es hängt also die Entscheidung der Frage vorläufig von der Virulenzprüfung atypischer Stämme ab. Auf Grund langer Zahlenreihen wird man dann schließlich zu einem Erfahrungsurteil gelangen können, falls uns die Entscheidung der Frage nicht durch andere bis jetzt noch unentdeckte Wege möglich gemacht werden sollte.

Behauptungen derart, daß man atypische virulente Bazillen gefunden habe, sind in dem Schrifttume der letzten Jahre bereits zu finden. Gedenken wir der drei Bazillenstämme Kurths (15), die auf keine Weise nach Neisser färbbar waren. Das gleiche wurde aus der Heubnerschen Kinderklinik berichtet (33). Dann haben Scheller (34) und Reichenbach (35) besonders bei Nasendiphtherien kurze und plumpe Formen gefunden, die also in diesem Punkte atypisch waren, obwohl sie durch ihre Färbbarkeit und besonders durch ihre Tiervirulenz sich als echte Diphtheriebazillen auswiesen.

II. Eigene Untersuchungen.

Angeregt durch die auf der diesjährigen Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie stattgehabte heftige und zu keiner Einigung führenden Debatte über die Stellung der Pseudodiphtheriestäbchen zu den echten Diphtheriebazillen suchte ich durch eigene experimentelle Untersuchungen mir ein Urteil über die theoretische und praktische Seite der Frage zu bilden. Insbesondere verfolgten die nachstehenden Untersuchungen den Zweck, nachzusehen, ob sich unter einer Reihe von Fällen atypische aber virulente Bazillen im oben erwähnten Sinne finden würden.

I. Das Untersuchungsmaterial stammte aus der Untersuchungsabteilung des hygienischen Instituts. Es wurde so vorgegangen, daß aus allen Ausstrichen, in denen sich Löfflersche oder diphtherieähnliche Bazillen fanden, diese reingezüchtet wurden. Ich ging dabei stets von einzelnen Kolonien aus, um möglichst Kulturen, herrührend von einem Bacillus, zu erhalten.

Die vorläufige Rubrizierung der Stäbchen geschah nach dem von Hrn. Prof. Heymann, dem Leiter der Untersuchungsstation, den Ärzten mitgeteilten Urteil (nach diesem Prinzip sind daher auch die Tabellen angelegt). Um besonders in zweifelhaften Fällen ein genaues Urteil zu erhalten, wurden nach Feststellung aller Eigentümlichkeiten der Stämme die Diagnosenpräparate (das sind die von dem Originalausstrich auf Löfflerplatte erhaltenen Fuchsin- und Neisserpräparate) den Herren Prof. Dr. Heymann und Prof. Dr. Römer mit verdeckter Nummer vorgelegt. Die Schwierigkeit der Diagnose bei zweifelhaften Stämmen erhellt daraus, daß



in einigen Fällen von beiden Untersuchern verschiedene Urteile abgegeben wurden.

II. Untersuchungsart. Nach Reinzüchtung der Bazillen wurden zunächst ihre Unbeweglichkeit im hängenden Tropfen und ihre Grampositivität festgestellt, so daß alle nachher zu schildernden Stämme als unbeweglich und gramfest anzusehen sind. Dann wurde ihr Verhalten in verschiedenster Weise geprüft, und zwar wurde:

1. Zu verschiedenen Malen das Verhalten zur Neisserschen Färbung und die Morphologie der Bazillen,
2. das Aussehen der 24 stündigen Serumreinkultur,
3. das Wachstum auf der Tellurplatte,
4. auf Glyzerinagar,
5. auf Gelatine beobachtet.
6. Wurde jeder Stamm auf fünf Bouillonröhrchen verimpft, und seine Säure- und Alkalibildung 24 Stunden, 48 Stunden, 4 Tage, 7 Tage und 10 Tage nach der Verimpfung durch Titration gegen Phenolphtalein ermittelt.
7. Die Fähigkeit, Traubenzucker zu vergären, wurde durch Verimpfung auf den Thielschen Nährboden (Traubenzucker, Nutrose, Lackmus) ermittelt.
8. Die Fähigkeit zu anaerobem Wachstum wurde durch den tiefen Agarstich mit nachträglicher Überschichtung von flüssigem Agar geprüft und zuletzt wurde
9. jeder Stamm auf seine Fähigkeit, Diphtheriegift zu bilden, untersucht, und zwar auf folgende Weise:

Nach der Reinzüchtung wurde ein Kölbchen gewöhnlicher Bouillon an der Oberfläche geimpft (vorher wurden die Bazillen durch Passage über mehrere Bouillonröhrchen an das Oberflächenwachstum „gewöhnt"). Nach zehntägigem ungestörten Wachstum wurde diese Kultur durch ein doppeltes Faltenfilter filtriert und zur Konservierung 0·4 Prozent Phenol zugesetzt. Mit dem klaren Filtrat wurde dann die Giftprüfung nach der von Römer (36) angegebenen Intrakutanmethode ausgeführt.

Zu diesem Zweck wird ein Meerschweinchen auf einer ganzen Seite seines Körpers mit Calziumsulfhydrat in schonender Weise enthaart und dann ganz vorn, in der Mitte und ganz hinten das Bouillonkulturfiltrat je eines Stammes durch Injektion von 0·1 der Originalflüssigkeit in die Haut geprüft. Technik: Man hebt eine Längsfalte an und stößt eine recht dünne Kanüle etwa $^1/_2$ bis 1^{cm} weit ein, so daß man sie dicht unter der Oberfläche liegen sieht. Dann injiziert man mittels Rekordspritze genau 0·1 Flüssigkeit. Es entsteht eine etwa linsengroße Quaddel, die man nicht verstreicht, sondern einfach stehen läßt.



Wie Römer festgestellt hat, läßt sich auf diese Weise noch $^1/_{500}$ der tödlichen Dosis nachweisen. Es eignet sich die Methode also auch zum Nachweis ziemlich schwacher Gifte.

Ist die Reaktion positiv, so findet sich schon nach 24 Stunden eine Rötung und Infiltratbildung an der Einspritzungsstelle. Ist das Gift nicht sehr schwach, dann bildet sich eine Quaddel und eventuell ein Blutextravasat im Zentrum aus, so daß die Erscheinung Ähnlichkeit mit einer Kokarde erhält. Bei genügender Giftdosis nekrotisiert dann die Injektionsstelle bis zur Größe eines 25-Pfennigstückes. Die Entscheidung über den Ausfall wird (besonders bei zweifelhaftem Befunde) erst nach 48 Stunden gefällt. Der Einfachheit wegen hält man sich zum Protokollieren an folgende Abkürzungen. Es bedeutet:

r = kleine Rötung,	R = große Rötung.
i = kleines Infiltrat,	I = großes Infiltrat,
q = kleine Quaddel,	Q = große Quaddel,
n = kleine Nekrose,	N = große Nekrose.

Nach positivem Ausfall wurde alsdann die Einspritzung derselben Dosis aber nach Bindung mit $^1/_{10}$ A.-E. (1 Stunde 37°) wiederholt.

Wenn der Ausfall dieses Versuches negativ war, so wurden, wie es Knebel (37) und Neisser in weiterem Ausbau der Römerschen Methode angegeben haben, die Bazillen selbst intrakutan injiziert.

Ich verrieb zu diesem Zweck zwei Ösen einer 24stündigen Serumkultur in 0·4 ccm steriler Kochsalzlösung. Davon injizierte ich die Hälfte. Ich gab also eine ganze Öse intrakutan. Verlief auch diese Probe negativ, dann injizierte ich einem Meerschweinchen von mittlerem Gewicht 3 ccm einer dreitägigen Bouillonkultur subkutan. Ein zweites Tier bekam gleichzeitig von derselben Kultur auch 3 ccm, aber mit Antitoxinzusatz (0·5 bis 1·0 A.-E.).

Diesen Prüfungen wurden insgesamt 44 Stämme unterzogen; 37 von ihnen waren von mir selbst aus den Platten der Untersuchungsstation reingezüchtet worden (Nr. 53 bis 462). Die übrigen sieben wurden mir zum Teil von Hrn. Prof. Heymann (1682, 1971, 1976 und 2049), zum Teil von Hrn. Prof. Neisser in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt (I 7, I 8, 6709).

III. Herkunft der Stämme. Über die Herkunft des eigenen Materials wäre folgendes zu berichten (s. Tabelle I).

Bis auf drei Stämme (Nr. 84, 111 und 151), die aus der Nase entnommen wurden, sind sie alle durch Tonsillarabstrich gewonnen. Zwölf von diesen letzteren stammen aus Rekonvaleszenten (10) und aus gesunden Personen (2), die im Verdachte standen, Bazillenträger zu sein (Nr. 80, 89, 119, 128, 188, 252, 265a und b, 282, 462; 85 und 118).

Tabelle I.

Übersicht der Stämme, geordnet nach der eingesandten klinischen Diagnose.
(Summe 37 Stämme.)

Klin. Diagnose	I. Diphtherie		II. Angina, zweifelhafte Diphtherie etc.			III. Nasendiphtherie			IV. Abgelaufene Diphtherie			V. Bazillenträger		
Nr.	echte DB.?	virulent?	Nr.	echte DB.?	virulent?	Nr.	echte DB.?	virulent?	Nr.	echte DB.?	virulent?	Nr.	echte DB.?	virulent?
53	ja	ja	87	??	nein	84	??	nein	80	nein	nein	85	??	nein
70	„	„	248	ja	ja	111	nein	„	89 (zu 53)	ja	ja	118	nein	„
93	„	„	284	nein	nein	151	„	„	119	nein	nein			
103	„	„	375	??	„				128	„	„			
104	„	„							188 (zu 70)	ja	„			
122	„	nein							252 (zu 70)	„	ja			
135	„	ja							265 a	„	„			
157	„	„							265 b	nein	nein			
159	„	„							282	„	„			
160	nein	nein							462 (zu 157)	ja (?)	ja			
170	ja	ja												
201	„	„												
229	„	„												
249	„	„												
253	„	„												
254	„	„												
259	„	„												
Summe: 17 DB. 1 Ps.-DB.			Summe: 1 DB. 2 zweifelhaft 1 Ps.-DB.			Summe: 1 zweifelhaft 2 Ps.-DB.			Summe: 5 DB. 5 Ps.-DB.			Summe: 1 zweifelhaft 1 Ps.-DB.		



IV. Einteilung der Stämme nach ihrem Aussehen im diagnostischen Präparat. 23 der 37 Stämme erschienen nach Form und Färbbarkeit von vornherein als echte Löfflerstäbchen. Ihre Erscheinungsform im mikroskopischen Präparate und in der Kultur sowie ihre Virulenz findet sich in Tabelle II A zusammengestellt.

Vier Stämme (84, 85, 87, 375) boten bei der Diagnose nach Form und Färbung größere Schwierigkeiten. Sie wurden deshalb zu einer besonderen Gruppe der „zweifelhaften" Tabelle II B zusammengefaßt.

Die übrigen 10 (80, 111, 118, 119, 128, 151, 160, 265b, 282, 284) erschienen von vornherein mit den Eigenschaften der Diphtheroiden und sind in Tabelle II C zusammengestellt. Über die Herkunft des Stammes 265b ist noch folgendes mitzuteilen: Er ist nicht etwa von vornherein aus dem Ausstrich des Falles 265 herausgezüchtet worden. Als das Verhalten des Bacillus 265 auf dem Tellurnährboden geprüft wurde, erschienen auf der Platte neben zahlreichen tiefschwarzen zwei oder drei graue Kolonien. Aus einer solchen wurde der Stamm 265b fortgezüchtet. Der schwarz wachsende Bacillus bekam die Bezeichnung 265a. Die Frage, ob es sich hier um einen Fall von Umwandlung zu einem Bacillus von pseudoartigem Aussehen handelt, oder ob von vornherein eine „Mischinfektion" vorlag, lasse ich unentschieden, denn obwohl bei der Herauszüchtung des Stammes 265 von einer Einzelkolonie ausgegangen wurde, läßt sich die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, daß in dieser Ausgangskolonie schon zwei verschiedene Keime nebeneinander existierten. Im Falle 282 waren in der Originalplatte außer den herausgezüchteten Pseudodiphtheriebazillen auch einige wenige unzweifelhafte Diphtheriebazillen gefunden worden, doch gelang ihre Reinzucht nicht.

Die Stämme 1682, 1971, 1976 und 2049[1] sind ebenfalls Pseudodiphtheriebazillen. Bei 1682, 1976 und 2049 handelte es sich um den Verdacht des Bazillentragens; 1976 ist die vierte Nachuntersuchung einer abgelaufenen Diphtherie (bei der dritten hatte man noch echte Diphtheriebazillen gefunden). Bei 1971 lautete die klinische Diagnose: Diphtherie. Schließlich sind noch I 7 und I 8[2] Pseudostämme, während 6709[2] ein typisches Löfflerstäbchen ist und deshalb in der Gruppe A untergebracht wurde.

V. Kulturelles Verhalten und Virulenz.

A. Die als echte Diphtheriebazillen diagnostizierten Stäbchen. Die Reihenfolge innerhalb der Tabelle II A ist nach der Virulenz abgestuft. Wir finden in Kolonne VIII, daß sie alle bis auf fünf Stämme

[1] Überlassen von Hrn. Prof. Heymann.
[2] „ „ Hrn. Prof. Neisser.

bei 10tägigem Wachstum in Bouillon gut Toxin bilden. (Intrakutanprüfung mit B.K.F. positiv.) Zwei dieser fünf übrigen Stämme gaben kein positives Resultat bei der Prüfung des B.K.F., dagegen zeigten sie sich virulent, wenn die Bazillen selbst dem Tiere einverleibt wurden (201 und 462). So bleiben schließlich nur die Stämme 122, 188 und 6709, die sich bei jeder Prüfung avirulent erwiesen. Das, was diese zwei Gruppen (virulente und avirulente) zusammenfaßte und ihre Einordnung in eine Abteilung rechtfertigte, war ihre Form und Färbbarkeit. Aber unter den einzelnen Individuen dieser großen Abteilung bestehen doch recht merkliche Verschiedenheiten. Wir finden da zunächst unter den virulenten auch von der Norm etwas abweichende Formen, freilich nicht so sehr abweichend, daß man sie für atypisch erklären möchte. So ist z. B. bei Stamm 159, ferner 201 und 253, die Form nicht ganz einwandfrei. Die Doppelfärbung ist jedoch gut ausgeprägt, und wenn z. B. Stamm 201 später auch noch mehr an Form verlor, so blieb doch seine Doppelfärbung gut erhalten.

Etwas anders liegt es bei dem Falle 462. Hier war gerade die Doppelfärbung sehr schlecht, aber die Lagerung und Form der Bazillen typisch, und infolgedessen wurde die auf Grund des Neisserpräparates zweifelhafte Diagnose nur auf Grund des Fuchsinpräparates positiv gestellt. Bei späteren Züchtungen wechselte die Doppelfärbung, indem sie einmal fast negativ war (14 Stunden Serumkultur) und wieder ein andermal (24stündige Serumkultur) schön positiv ausfiel. Es ist bemerkenswert, daß bei der S. 518 erwähnten Kontrolle des Befundes dieser Stamm 462 von Hrn. Prof. Heymann wiederum wegen seiner Form und Lagerung für echt erklärt wurde, während ihn Hr. Prof. Römer für unecht hielt.

Von den drei avirulenten Stämmen waren zwei (122 und 6709) in Form und Färbbarkeit ganz typisch, 188 dagegen besaß zwar gute Doppelfärbung und typische Lagerung (V-Form usw.), aber die Stäbchen selbst waren recht kurz und plump. Bilder von späteren Züchtungen unterschieden sich nicht von diesem Befunde.

Überblicken wir die Kulturmerkmale auf den verschiedenen Nährböden (Abt. III bis VII), so finden wir nur wenig Charakteristisches:

Die Serumkultur ist ja gewöhnlich graugelb und granuliert, doch es fehlen auch weißliche und feuchtwachsende nicht (104, 201, 188). Auch der *Tellurnährboden* ist zur sicheren Erkennung nicht zu brauchen, besonders zu der von Conradi und Troch angegebenen Zeit (20 Stunden) sind die Mehrzahl unserer Stämme nicht einheitlich schwarz gewesen, und auch nach 48 Stunden sind nicht alle echten Diphtheriekolonien tiefschwarz. Ganz kunterbunt durcheinander geht nun erst das Wachstum auf *Glyzerinagar* und *Gelatine*. Hier wurden alle Extreme beobachtet vom üppigsten

Tabelle

Nummer	I. Form und Lagerung der Bazillen (12—18 stünd. Serumkultur)	II. Verhalten der Neisserfärbung (12—18 stünd. Serumkultur)	III. Aussehen der 24 stündigen Serumreinkultur	IV. Färbung der Einzelkolonien auf der Tellurplatte nach 20 Stunden	48 Stunden
	A. Nach Form und Färbbarkeit als echte Diphtheriebazillen				
53	lang, schlank, kolbig, Lag. in V-Form	reichlich positiv und typisch	graugelb, granuliert	hellgrau und schwarz	mittelgrau u. schwarz
70	desgl.	reichlich positiv	desgl.	dunkelgrau	tiefschwarz
89	„	deutlich positiv, bei spät. Zücht. vereinzelt	„	tiefschwarz	„
93	„	deutlich positiv	„	grau und tiefschwarz	„
103	„	„ „	„	schwarz	„
104	„	„ „	isol. Kolonien, gelblichweiß	grau und schwarz	dunkelgrau u. tiefschwarz
135	„	„ „	graugelb, granuliert, trocken	tiefschwarz	tiefschwarz
157	„	„ „	graugelb, fein granuliert	grau und tiefschwarz	„
159	desgl., doch z. T. auch kurze Bazillen	„ „	desgl.	mittelgrau und schwarz	„
170	lang, schlank usw.	„ „	„	hellgrau und dunkelgrau	schwarz
229	„ „ „	„ „	graugelb, granuliert	tiefschwarz	tiefschwarz
248	mittellang, ein wenig plumper	„ „	desgl.	schwarz	„
249	lang, schlank, typisch gelagert	„ „	„	„	schwarz
252	lange Kolben, typisch gelagert	„ „	graugelb, fein granuliert	grauschwarz	tiefschwarz
253	mittellang, etwas plumper	„ „	graugelb, sehr fein granuliert	tiefschwarz	„
254	lang, schlank	„ „	graugelb, fein granuliert	hellgrau	dunkelgrau
255	mittellang, schlank	„ „	desgl.	hellgrau und schwarz	dunkelgrau u. tiefschwarz
259	sehr lang, schlank, kolbig	„ „	„	mittelgrau und schwarz	schwarz
265a	desgl.	„ „	„	schwarz	tiefschwarz
201	kleine und große Bazillen, später kleine vorwiegend	desgl. bei späterer Züchtung	feucht, weißlich, mit glattem Rand	grauschwarz	„
462	lang, schlank	1. Zücht. kleinkörnig nur bei wenig Baz., 2. Zücht. wenige Baz., 3. Zücht. ganz 0, 4. Zücht. (24 Std.) häufig	graugelb, fein granuliert, Rand jedoch glatt	hellgrau und dunkelgrau	schwarzgrau
122	lange Kolben	deutlich positiv	graugelb, granul.	tiefschwarz	tiefschwarz
188	ziemlich kurz, aber typische Lagerung in Winkelstellung	deutlich positiv, auch bei späterer Züchtung	sehr feucht, glatt, weißlich	hellgrau	dunkelgrau
6709	lange Kolben	desgl.	graugelb granuliert	schwarz	schwarz



I.

V.	VI.	VII.	VIII.			IX.
			Virulenz			
Wachstum af Glyzerin-agar (48 Std.)	Wachstum auf Gelatine (22°. 48 Std.)	Wachstum im tiefen Agarstich (3 Tage)	a) intrakut. 0·1 B.K.F. (10 Tage alt)	b) intrakut. 1 Öse (24std. Ser.-K.)	c) subkut. 3 ccm B.K. (3 Tage alt)	Bemerkungen
rscheinende Bazillen, unbeweglich und grampositiv.						
ehr spärlich	sehr spärlich	++	N (mit Antitoxin = 0)	—	—	
„ „	spärlich	++	N	—	—	
mäßig reichlich	„	++	N	—	—	1. Nachuntersuchung zu Fall 53.
reichlich	„	+++	RI	—	—	
äßig reichl.	mäßig reichl.	+++	RIQ Tod	—	—	S.B. typ. Di.-Befund.
reichlich	reichlich	+++	N	—	—	
mäßig reichlich	spärlich	++	RI	—	—	
ieml. reichl.	sehr spärlich	+++	RI	—	—	
reichlich	mäßig reichl.	+++	RI	—	—	
ehr reichlich	fast 0	+++	RIQ	—	—	
spärlich bis näßig reichl.	„ 0	++	N (0·001)	—	—	Dosis 0·01 tötete Meerschweinchen.
spärlich	spärlich bis mäßig reichl.	+++	RIn (0·01)	—	—	Dosis 0·1 tötete Meerschweinchen.
näßig reichl.	sehr reichlich	++	N (0·01)	—	—	Desgl.
zieml. „	„ „	+++	N (0·01)	—	—	Desgl.; 6. Untersuchung zu Fall 70.
mäßig „	sehr spärlich	+++	N	—	—	
„ „	fast 0	+++	N	—	—	
„ „	mäßig reichl.	+++	RIQ	—	—	
„ „	spärlich	+++	N	—	—	
„ „	reichlich	+++	N	—	—	Aus Renkonvaleszenten.
sehr üppig	fast 0	++	0	ri	Tod (+A. = 0)	
reichlich	„ 0	+++	0	RI Tod	Tod (+A. Verzögerung)	Sektionsbefund typisch; 6. Untersuchung zu Fall 157.
spärlich	reichlich	+++	0	0	0	
reichlich	mäßig reichl.	++	0	0	0	5. Untersuchung zu Fall 70.
„	„ „	+++	0	0	0	Nicht selbst gezüchtet (überlassen von Herrn Prof. Neisser).

Tabelle II.

Nummer	I. Form und Lagerung der Bazillen (12—18 stünd. Serumkultur)	II. Verhalten der Neisserfärbung (12—18 stünd. Serumkultur)	III. Aussehen der 24 stündigen Serumreinkultur	IV. Färbung der Einzelkolonien auf der Tellurplatte nach 20 Stunden	48 Stunden
	B. Nach Form und Färbbarkeit zweifelhaft				
84	wenig Keulenform, Winkelstellung, mittellang und kurz	fast jeder Bac. positiv, spätere Zücht. dasselbe	graugelb, granuliert	grau u. schwarz	schwarz
85	mittellange u. kurze Formen in Winkelstellung	fast jeder Baz. positiv, später negativ	zum Teil ganz glatt	hell und dunkelgrau	schwarzgrau
87	desgl.	schwach u. feinkörnig	sehr spärlich, graugelb	hellgrau	tiefschwarz
375	hauptsächl. plump, kurz, zieml. häufig Winkelstellung	häufig, aber sehr feine u. sehr grobe Körner	graugelb, granuliert	tiefschwarz	„
	C. Nach Form und Färbbarkeit als Diphtheroide				
80	kurz, plump parallel gelagert	zieml. häufig positiv, ebenso bei späterer Züchtung	graugelb, granuliert, Rand schleimig	hellgrau	dunkelgrau und schwarz
111	desgl.	negativ, später vereinzelt positiv	weißlich, spärlich	ganz hellgrau	dunkelgrau
118	„	negativ	gleichmäßig glatt, weißlich	hellgrau	„
119	„	negativ, wie Nr. 111	spärlich, gelblichweiß	ganz hellgrau	schwarzgrau
128	„	negativ, später zieml. reichlich vorhanden	graugelb, granuliert	hellgrau	hellgrau
151	„	vereinzelt positiv, spät. Zücht. ganz 0	graugelb, stark granuliert	„	schwarzgrau
160	„	negativ	glatt, weißlich, stellenweise keine Granula	„	dunkelgrau und schwarz
265b	„	ziemlich häufig	weißlichgelb, etwas feucht	„	dunkelgrau
282	„	positiv, spätere Zücht. negativ	graugelb, granuliert	„	schwarzgrau
284	„	negativ, spätere Zücht. positiv	sehr spärlich	„	dunkelgrau
1682	„	negativ	sehr feucht, weißlich, glatt	„	„
1971	„	„	desgl.	„	„
1976	„	„	graugelb, granul.	mittelgrau	„
2049	„	„	weißlich, feucht	„	„
I 7	„	„	gelblichweiß	„	mittelgrau
I 8	„	„	„	ganz hell	schwarzgrau

Zeichenerklärung: + = schlechtes Wachstum, ǂ = zweifelhaft, ob schlecht
R = große Rötung, I = großes Infiltrat, Q = große Quaddel, B. K. = Bouillonkultur

ortsetzung.)

V. achstum Glyzerin-Agar 48 Std.)	VI. Wachstum auf Gelatine (22°. 48 Std.)	VII. Wachstum im tiefen Agarstich (3 Tage)	VIII. Virulenz a) intrakut. 0·1 B. K. F. (10 Tage alt)	b) intrakut. 1 Öse (24std. Ser.-K.)	c) subkut. 3 ccm B.K. (3 Tage alt)		IX. Bemerkungen
scheinende Bazillen, unbeweglich und grampositiv.							
hr üppig	mäßig reichl.	+++	0	0	0		Aus Nasen-diphtherie.
r reichlich	reichlich	+	0	0	0		Aus „Bazillen-träger" isoliert.
ßig reichl.	spärlich	+	0	0	0		
ehr üppig	reichlich	ǂ	0	0	0		
rscheinende Bazillen, unbeweglich und grampositiv.							
eichlich	reichlich	+	0	0	0	alle avirulent.	
ır reichlich	„	+	0	0	0		Aus Nasen-diphtherie.
„ „	spärlich	+	0	0	0		Aus „Bazillen-träger" isoliert.
reichlich	reichlich	+	0	0	0		
„	spärlich	+	0	0	0		
pärlich bis reichlich	reichlich	+	0	0	0		Aus Nasen-diphtherie.
eml. reichl.	„	+	0	0	0		
reichlich	sehr reichlich	ǂ	0	0	0		Aus Rekonvaleszenten gezüchtet durch Tellurplatte.
ehr reichlich	„ „	+	0	0	0		
reichlich	reichlich	+	0	0	0		
mäßig reichl.	„	+	0	0	0		Überlassen von Herrn. Prof. Heymann
reichlich	„	+	0	0	0		
mäßig reichl.	sehr reichlich	+	0	0	0		
reichlich	„ „	+	0	0	0		
ehr reichlich	spärlich	+	0	0	0		Überlassen von Hrn. Prof. Neisser.
sehr üppig	zieml. reichl.	+	0	0	0		

oder gut, ++ = gutes Wachstum, +++ = sehr gutes Wachstum, N = große Nekrose,
B. K. F. = Bouillonkulturfiltrat.



bis zum spärlichsten Wachstum. Anders ist es dagegen mit dem Wachstum im *tiefen Agarstich.* Wir sehen (7. Rubrik), daß hier alle Stämme der Tabelle II A sehr gut gewachsen sind, wie es auch schon von Escherich und Neisser für die echten D.B. für charakteristisch gehalten wurde.

Vergleichen wir jetzt einmal mit diesen echten Diphtheriebazillen die nach Form und Färbbarkeit zweifelhaften (Tabelle II B) und die als „Nicht-Diphtheriebazillen" diagnostizierten Stäbchen (Tabelle II C).

Keiner von diesen Bazillen hat irgendwie die Fähigkeit, Gift zu bilden oder Meerschweinchen deutlich krank zu machen.[1]

B. Die Stäbchen mit unsicherer Diagnose (84, 85, 87, 375) waren weder in Form noch Färbbarkeit eindeutig. Die drei ersten waren anfangs mittellang bis kurz. Die Neisserfärbung bei 84 und 85 gut, zweifelhaft bei 87. Bei 375 war besonders die Form zu beanstanden, die Neisserfärbung dagegen war ziemlich deutlich.

Bis auf den Stamm 84 ist bei dieser Gruppe die *Serumkultur* graugelb und granuliert, auf dem *Tellurnährboden* wurde einer schwarz und einer schwarzgrau, zwei wurden tiefschwarz. Die *Gelatinekultur* und die auf *Glyzerinagar* sind auch hier wechselnd. Der *tiefe Agarstich* gab hier kein eindeutiges Resultat. Ein Stamm (84) wuchs vorzüglich, bei einem war die Entscheidung zweifelhaft, ob gut oder schlecht (375), und die übrigen wuchsen schlecht.

C. Die als „Nicht-D.B." diagnostizierten Stäbchen waren durchweg kurz und plump, mit schlechter Neisserfärbung (Ausnahme 265 b). Bei späteren Züchtungen trat in einigen Fällen die Polkörnerfärbung häufiger auf (80, 128), in anderen Fällen war sie anfangs besser, um später ganz Null zu werden (z. B. 282).

Bei der *Serumkultur* herrschte hier das glatte weißliche Aussehen vor. Aber auch das graugelbe granulierte fehlte nicht (80, 128, 151, 282, 284). Auf dem *Tellurnährboden* wurde in dieser Gruppe keiner tiefschwarz. Sie zeigten alle Stufen des Grau, vom hellsten bis zum dunkelsten schwarzgrau, letztere Kolonien waren gewöhnlich im Zentrum schwarz gefärbt, doch konnte ich keinen Unterschied zwischen den Stäbchen des schwarzen Zentrums und denen des grauen Randes feststellen, wie es Conradi angegeben. Das Wachstum auf *Glyzerinagar* und *Gelatine* war wieder sehr wechselnd. Nur das ein Kriterium, das wir schon bei der Gruppe A so eindeutig fanden, lieferte auch hier wieder bemerkenswert

[1] Bei subkutaner Einspritzung lebender Kultur beobachtete ich wohl einige Male Infiltratbildung, doch gingen diese geringfügigen Erscheinungen in kürzester Zeit wieder zurück und traten auch bei den Kontrolltieren auf, bei denen der Infektionskultur eine genügende Menge Antitoxin zugemischt wurde.

einheitliche Ergebnisse: Alle Stäbchen der Gruppe C wuchsen sehr schlecht im *anaeroben Agarstich*, nur ein einziger (265 b) stand auf der Grenze zum guten Wachstum, er wird deshalb (wie 375) mit einem ∓-Kreuz geführt.

Wir sehen, alle diese Kulturmerkmale und auch die Virulenzprüfung geben uns keine Möglichkeit, zu einem abschließenden Urteil zu gelangen.

VI. Prüfung auf Säurebildung. Der letzte Weg, durch den wir dazu kommen könnten, wäre die Feststellung der „Säureproduktion" des Diphtheriebacillus. Ein Blick auf Tabelle III (A bis C) genügt, um zu zeigen, daß hierzu die quantitative Säure- bzw. Alkalititration der gewöhnlichen Bouillon-Kulturen nicht zu brauchen ist. Es gibt nicht nur virulente, d. i. ganz echte Diphtheriebazillen, die von vornherein reichlich Alkali bilden, wie es auch schon andere Untersucher beschrieben (s. oben), sondern auch unter den unzweifelhaften Pseudodiphtheriebazillen fanden sich eine ganze Reihe (8 von 16), die zum wenigsten anfangs Säure bildeten, zwei von diesen wurden sogar bis zum Schluß immer saurer. Vollends die zweifelhaften Bazillen blieben nach wie vor zweifelhaft.

Technik der Titration.

Die Stämme wurden auf je fünf Röhrchen à 5 ccm Bouillon verimpft, fünf sterile Bouillonröhrchen (als Kontrollen) hinzugetan. Am 1., 2., 4., 7., 10. Tage wurden jeweils ein beimpftes und ein steriles Röhrchen aus dem Brutschrank genommen, beide (auch die Kontrolle) durch ein einfaches Filter filtriert und dann gegen Phenolphtalein mit $^1/_{10}$ Normallauge und $^1/_{10}$ Normalsäure titriert. Umrechnung auf 1 Liter und Normallösung und Abzug der Säure der Normalbouillon.

Die Titrationsröhrchen wurden vor dem Titrieren auf Reinheit mittels Ausstrich geprüft, von Zeit zu Zeit auch durch Kulturprobe. (Gewisse Unebenheiten der Säure- bzw. Alkaleszenzkurve erklären sich einmal aus den natürlichen Fehlerquellen bei der Titration, die sich durch die Umrechnung von 5 ccm auf 1000- gleich 200 fach vergrößern, und dann daraus, daß diese 5 ccm nicht von einer Masse stammen, sondern von vornherein in verschiedenen Röhrchen sich befinden.)

Die Fähigkeit, Traubenzucker zu vergären, wurde geprüft mit Hilfe des Thielschen Nährbodens (Traubenzucker, Nutrose und Lackmus als Indikator).

Die nachstehende Figur (S. 531) zeigt uns, daß sich die Angehörigen unserer drei Gruppen auch hier nicht untereinander gleich verhalten.

Immerhin ist die Tatsache nicht unerheblich, daß am dritten Tage alle virulenten Stämme Rötung und Trübung zeigen. Von den als echte Diphtheriestäbchen diagnostizierten blieb im ganzen nur

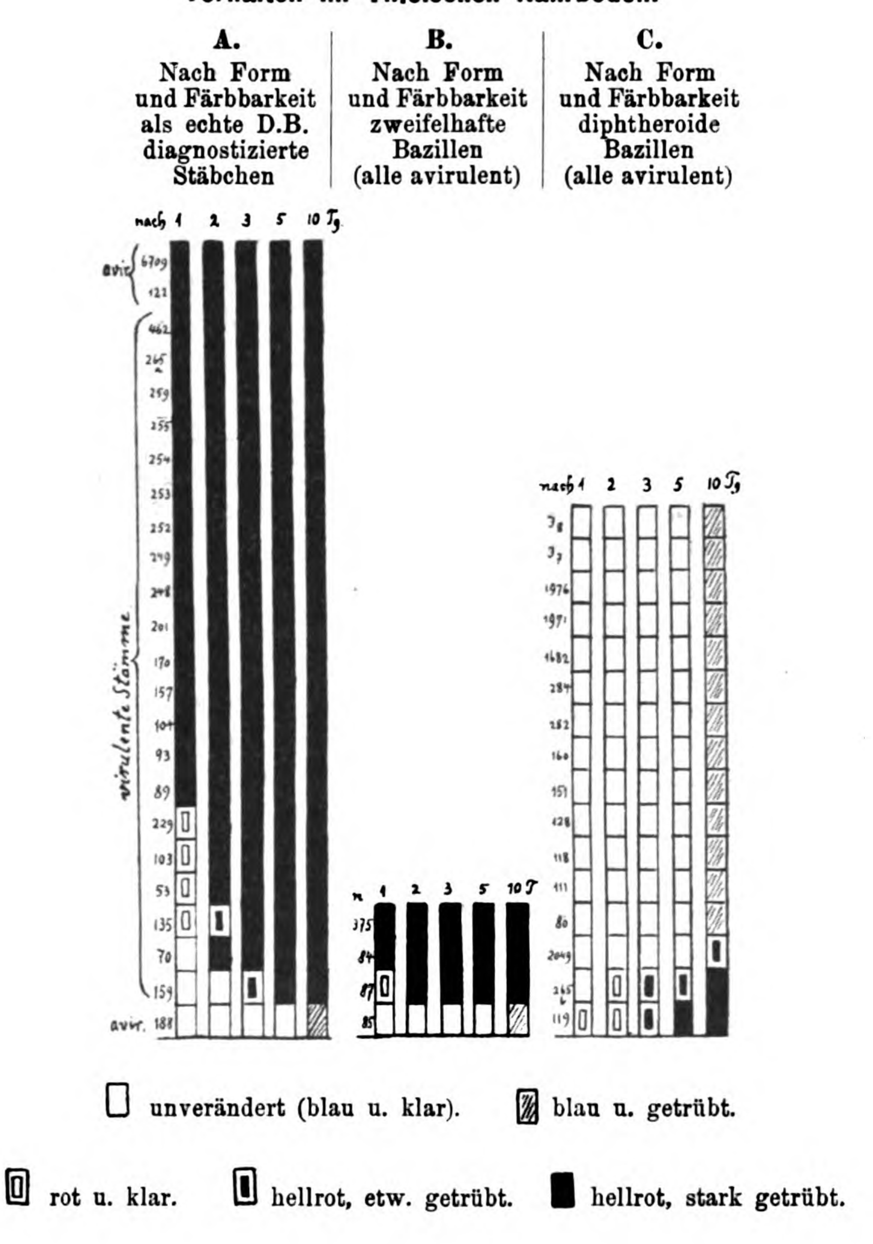


Tabelle III.
Säure- bzw. Alkalibildung in gewöhnlicher Bouillon.

Nummer	I. Säuregrad berechnet auf 1 Liter Bouillon und ausgedrückt in Kubikzentimeter Normalsäure am					II. Grad der Alkaleszenz, berechnet auf 1 Liter Bouillon und ausgedrückt in Kubikzentimeter Normallauge am					Bemerkungen
	1.	2.	4.	7.	10. Tage	1.	2.	4.	7.	10. Tage	
A. Die nach Form und Färbbarkeit für echte Diphtheriebazillen gehaltenen Stäbchen.											
53	2·0	6·0	1·0	—	—	—	—	—	5·0	9·0	Virulente Stämme.
70	2·0	2·0	0	—	—	—	—	0	8·0	9·0	
89	14·0	12·0	—	—	—	—	—	3·0	8·0	12·0	
93	1·8	2·7	15·9	5·0	2·6	—	—	—	—	—	
103	—	—	—	—	—	0·5	6·8	7·8	10·4	12·6	
104	3·5	7·0	16·0	11·0	11·0	—	—	—	—	—	
135	3·2	13·1	19·4	23·2	18·1	—	—	—	—	—	
157	1·8	4·4	10·6	6·8	6·1	—	—	—	—	—	
159	0·8	2·8	12·5	5·0	5·3	—	—	—	—	—	
170	1·8	4·8	7·2	6·1	6·1	—	—	—	—	—	
229	1·8	4·8	20·9	—	—	—	—	—	14·4	13·5	
248	3·9	2·9	5·4	—	—	—	—	—	3·8	12·1	
249	2·9	—	—	—	—	—	5·6	10·1	10·5	9·6	
252	—	—	—	—	—	0	4·1	8·6	10·5	12·1	
253	2·4	3·8	21·5	—	—	—	—	—	12·7	15·2	
254	0	2·8	18·6	—	—	—	—	—	16·5	16·8	
255	—	—	—	—	—	1·1	6·6	6·6	18·3	13·3	
259	1·8	4·1	2·5	—	—	—	—	—	15·7	15·2	
265a	—	—	—	—	—	1·1	1·1	3·8	7·1	8·4	
201	1·8	1·3	17·9	—	—	—	—	—	12·5	13·2	
462	1·2	6·4	—	—	—	—	—	3·7	12·6	12·6	
122	3·0	10	—	—	—	—	—	4·0	7·7	7·3	Avirulente Stämme.
188	—	—	—	—	—	2·2	3·2	4·9	6·1	9·4	
6709	—	—	—	—	—	0·4	4·4	12·5	13·5	12·7	
B. Nach Form und Färbbarkeit zweifelhafte Bazillen.											
84	2·0	—	—	—	—	—	1·8	7·0	13·0	12·75	Alle avirulent.
85	1·0	0	—	—	—	—	0	6·0	8·0	7·0	
87	4·0	—	—	—	—	—	0	1·0	7·0	5·8	
375	20·1	27·8	27·3	23·6	24·9	—	—	—	—	—	
C. Nach Form und Färbbarkeit diphtheroide Bazillen.											
80	1·1	—	—	—	—	—	3·3	4·2	6·5	5·6	
111	2·0	0·4	0	—	—	—	0	0	4·0	8·0	
118	—	—	—	—	—	3·9	4·1	4·1	12·6	12·1	
119	3·0	2·0	3·0	6·0	4·75	—	—	—	—	—	
128	0	1·6	—	—	—	—	—	3·7	8·3	10·9	
151	0	0	—	—	—	0	0	2·8	2·0	3·4	
160	—	—	—	—	—	1·1	2·1	10·1	13·3	14·6	
265b	2·1	2·1	2·6	13·2	14·3	—	—	—	—	—	
282	—	—	—	—	—	0	0	5·0	13·3	13·9	
284	0·3	—	—	—	—	—	1·1	4·7	4·6	4·6	
1682	—	—	—	—	—	0·9	7·4	11·4	13·6	15·1	
1971	0·3	0·8	—	—	—	—	—	0·3	2·0	11·4	
1976	—	—	—	—	—	0·3	2·6	13·2	13·9	15·1	
2049	—	—	—	—	—	0·3	1·4	11·4	12·6	16·4	
I 7	1·6	0·8	—	—	—	—	—	10·3	14·9	15·0	
I 8	—	—	—	—	—	2·4	2·4	5·2	5·0	7·4	



Verhalten im Thielschen Nährboden.



ein einziger (188) auch bei längerer Beobachtung blau, trotzdem sich die Bazillen üppig vermehrt hatten, wie ich mich durch Ausstrichpräparat überzeugte. Die Kultur war auch rein geblieben (Probe durch Ausstrich auf Serumplatte).[1]

[1] Außerdem wurden bei allen zweifelhaften Ergebnissen mehrfach Wiederholungen angestellt.



Von den Pseudodiphtheriebazillen (C) röteten aber auch einzelne und zwar um so mehr, je länger die Beobachtung dauerte. Doch fehlte bei den sich rötenden bis zum 3. Tag die Trübung. Die Bazillen der Gruppe B verhielten sich auch hier wieder verschieden. Drei (84, 87, 375) bildeten Säure und trübten auch genau so, wie die Bazillen der Gruppe A, einer (85) blieb blau.

VII. Zusammenfassung. Überblicken wir alle Ergebnisse der Prüfung, so finden wir nur ein Kulturmerkmal, das die als „echte" diagnostizierten Stäbchen ausnahmslos darboten, das gute Wachstum im tiefen Agarstich. Fast gleichbedeutend erscheint das Verhalten im Thielschen Nährboden; denn hier fand sich nur einer, der sich ganz abweichend verhielt (188). Es lassen sich also nur diese zwei Kulturmerkmale zu einer Unterscheidung verwerten. Alle andern sind zu inkonstant. Ob sie genügen, um daraus eine Scheidewand zwischen „echten" und „falschen" zu errichten, wollen wir weiter unten sehen.

Wenn wir jetzt die Verteilung unserer Stämme nach dem oben angeführten Neisserschen Schema versuchen, so wollen wir umgekehrt vorgehen und mit Gruppe C beginnen. Denn, wie wir sehen werden, finden sich bei Gruppe A Schwierigkeiten.

Ohne Zweifel gehören alle Stämme dieser Gruppe C auch zu Neissers Gruppe C-Diphtheroide, denn sie weichen nicht nur durch ihre Avirulenz, sondern auch sonst noch in mehr als einem Punkte vom typischen Diphtheriebacillus ab. Sie sind alle kurz und plump, die Mehrzahl hat schlechte Doppelfärbung, bildet keine Säure und wächst schlecht bei anaeroben Verhältnissen. Der letzte Punkt ist auch bei den schwachen Säurebildnern 119 und 2049 ausschlaggebend.

Nur der Bacillus 265b nimmt eine etwas abweichende Stellung ein. Ein Punkt läßt ihn diphtheriod erscheinen, seine kurze plumpe Gestalt. Die Neisserfärbung ist reichlich bei ihm vorhanden, er bildet Säure im Thielschen Nährboden und im tiefen Agarstich wächst er besser als die anderen Diphtheroiden. Allerdings nicht so reichlich, wie die echten Diphtheriebazillen. Man kann infolgedessen darüber streiten, ob er zu Gruppe B (atypische) oder C (diphtheroide) gehört.

Von der Gruppe B, den zweifelhaften, wäre der Stamm 84 wohl sicher zu Neissers Gruppe B, atypische und avirulente, zu rechnen, denn er weicht nur in einem Punkte ab: in der Form! Doppelfärbung, Säurebildung, anaerobes Wachstum sind dagegen typisch. 85 gehört zu den Diphtheroiden (Säure und Agarstich negativ). Ebendorthin kann man den Stamm 87 rechnen wegen seiner zweifelhaften Form und dem schlechten Wachstum im anaeroben Agarstich. Fast so schwierig wie die



Klassifizierung des Stammes 265b ist die des Bacillus 375. Auch er bildet Säure, auch er wächst etwas reichlicher unter anaeroben Bedingungen, aber da sowohl Form wie Färbbarkeit nicht einwandfrei sind, so ist er der Gruppe der Diphtheroiden zuzuteilen.

In unserer ersten Gruppe (A) ist zunächst der Bazillus 188 zu beurteilen. Er ist avirulent, wächst gut im tiefen Agarstich, aber er bildet keine Säure, seine Form ist nicht ganz typisch, wohl aber die Lagerung und Doppelfärbung. Somit ist er gewissermaßen das Gegenstück zu 265b. Während bei jenem das Wachstum im Agarstich seine Einreihung erschwerte, ist es hier der Mangel an Säurebildung.

Die avirulenten Stämme 122 und 6709 sind sonst in jeder Beziehung typisch und gehören also unter A II zu der nach Neisser nur selten anzutreffenden Gruppe der typischen und avirulenten.

Von den virulenten Bazillen gehören alle zu Neissers Gruppe A I (typische und virulente). Nur 462 macht da gewisse Schwierigkeiten. Sein Verhalten auf den Nährböden ist überall typisch, ebenso seine Form und Lagerung. Nur in einem Punkte ist er anfechtbar. Die Doppelfärbung ist nur ganz vereinzelt. Es konnte die Diagnose „Diphtheriebacillus" nur auf Grund des Fuchsinpräparates gestellt werden.[1]

Wenn man diesem Umstande große Bedeutung zumessen will, so hätte man an diesem Stamme ein Beispiel eines atypischen aber virulenten Bacillus, also jener von mir S. 518 auf Grund des Neisserschen Schemas theoretisch konstruierten Gruppe.

III. Theoretische und praktische Schlußfolgerungen.

Die Zahl der vorliegenden Untersuchungen ist zu klein, um von ihnen eine befriedigende Antwort auf die oben gestellten Fragen erwarten zu können. Selbst wenn wir für den Bacillus 462 die Gruppe „atypische und virulente" eigens einrichten wollten, so wäre doch ein solcher einzelner Befund nicht beweisend für die Einheitslehre. Was sich aber im Sinne dieser Hypothese verwerten ließe, wäre vielleicht folgende Beobachtung.

Die Stämme 265b, 188 und 462 haben uns am meisten Schwierigkeiten bei der Einreihung in das Schema gemacht. Es ist auffallend, daß diese drei Stämme alle aus Rekonvaleszenten gezüchtet sind, ferner

[1] Von Hrn. Prof. Heymann (s. S. 523), Hr. Prof. Römer dagegen bezeichnete ihn als „Nicht-D.B.".



daß fünf der zehn von mir selbst gezüchteten Pseudostämme aus Diphterie-Rekonvaleszenten isoliert worden sind, wobei wohl bemerkt sei, daß alle Pseudodiphtheriebazillen, die in den letzten Monaten gefunden wurden, herausgezüchtet und in dieser Arbeit verwertet worden sind. Es ist da doch die starke Beteiligung der Rekonvaleszenten an der Lieferung der Pseudodiphtheriebazillen auffallend. Zwischen dem erstuntersuchten Falle (53) und dem letzten Pseudodiphtheriefalle (284) waren 202 Fälle, bei denen die Diagnose „D.-B. negativ" gestellt wurde, und unter diesen wurden auch nur fünfmal Pseudodiphtheriebazillen gefunden. Schon Kurth, ja auch schon Roux und Yersin hatten bereits darauf hingewiesen, daß sich die Pseudodiphtheriebazillen besonders häufig bei Rekonvaleszenten finden, und Scheller fand sie sehr oft zusammen mit echten D.-B.

Wenn wir uns schließlich daran erinnern, daß bei meinen Untersuchungen sich Stämme fanden, die eine Art Brücke einmal zwischen Neissers Gruppe A (echte D. B.) und Gruppe B (atypische Bazillen) schlugen (s. Stamm 462), dann aber auch andere die Verbindung zwischen Diphtheroiden und atypischen Stämmen (Neissers Gruppen C und B) in gewissem Sinne herstellten (188, 250b und 375), so wird man, wenn man vor die Entscheidung gestellt ist, ob man sich zur dualistischen oder zur Einheitsidee bekennen soll, an diesen Befunden nicht blind vorbeigehen dürfen.

Die Zahl meiner Untersuchungen ist zu klein, als daß ich es wagen dürfte, die schwierige Frage zu entscheiden, ob echte Diphtheriebazillen, atyipsche Stämme und die sogenannten Diphtheroiden eine einzige eng zusammenhängende und in einander hinüberwechselnde Gruppe sind. Sie bedeuten lediglich einen Beitrag zu dieser Frage.

Immerhin, wenn die Erfahrungen, wie ich sie bei meinem kleinen Material gemacht habe, bei ausgedehnten systematischen Untersuchungen wiederkehren sollten, so müßte die Frage, ob die echten Diphtheriebazillen und die diphtherieähnlichen nicht in einem engen phylogenetischen Zusammenhang stehen, in neuer Beleuchtung erscheinen. Der Gedanke einer solchen inneren Zusammengehörigkeit wird außerdem durch die neuerdings sich mehrenden Untersuchungen über „Mutation" bei Diphtheriebazillen nähergerückt.

Nur noch eine Schlußfrage drängt sich uns natürlich auf. Was bedeutet die Schwierigkeit in der Unterscheidung zwischen echten Diphtherie- und diphtherieähnlichen Bazillen für die praktische Diphtheriediagnose, wie sie zur Zeit in den Untersuchungsämtern geübt wird? In dieser Richtung lehrt mein kleines Material:

Alle die Stämme, die bei der Reinzüchtung sich als spezifisch virulent und echtes Diphtheriegift bildend erwiesen haben,



sind von vornherein als echte Diphtheriebazillen auf Grund ihrer Morphologie diagnostiziert worden.

Wenn man sich auf den praktisch sicher nicht unberechtigten Standpunkt stellt, daß für die bakteriologische Diphtheriediagnose als Grundlage der hygienischen Diphtheriebekämpfung in erster Linie diejenigen Stämme in Betracht kommen, die das den Menschen krankmachende Diphtheriegift liefern, so erfüllt die übliche Untersuchungsmethode in der Hand des Erfahrenen ihren Zweck ideal: kein einziger der giftbildenden Stämme entging der Diagnose!

Die andere Frage, ob nicht einmal unnützerweise zu viel Diphtherie diagnostiziert wird, d. h. ein avirulenter Bacillus für „echt" erklärt wird, beantwortet sich auf Grund meines Materials folgendermaßen: Die übergroße Mehrzahl der avirulenten Bazillen wurde als solche auf Grund der morphologischen Untersuchung ohne weiteres erkannt (13 unter 19).[1]

Von den sechs übrigen nachher als avirulent erkannten Stämmen wurde bei vieren die Vorsichtsdiagnose „zweifelhafter Befund" gestellt, so daß schließlich nur zwei Stämme übrig bleiben, die bei später festgestellter völliger Avirulenz auf Grund ihres morphologischen Verhaltens als echte Diphtheriebazillen diagnostiziert wurden (122 und 188).[1]

Weder diese beiden positiven Entscheidungen, noch die vier zweifelhaften bedeuten aber praktisch ein Unglück, denn die praktische Folge ist höchstens, daß in Prophylaxe und Therapie bei solchen Einzelfällen einmal mehr getan wird als vielleicht nötig ist. Weiterhin läßt jedoch ein Umstand das diagnostische „Unglück", wenn man es überhaupt so nennen darf, praktisch noch bedeutungsloser erscheinen, ja, erhöht sogar nach der theoretischen Seite hin den Wert der morphologischen Diphtheriediagnose; denn unter diesen sechs avirulenten Stämmen, bei denen die Diagnose Diphtherie gestellt oder zweifelhaft gelassen wurde, finden sich zwei Stämme, die auf Grund wertvoller Kriterien (wie Säurebildung, anaerobes Wachstum (84), 122 außer der Virulenz sogar in allen Kriterien) sich genau so wie echte Diphtheriebazillen verhalten, vermutlich den echten sehr nahe, vielleicht in engstem phylogenetischen Zusammenhange mit ihnen stehen.

Ja, selbst bei zwei weiteren Stämmen, 87 und 375, die wir nach dem Neisserschen Schema zu den Diphtheroiden rechnen müssen, ist ihre typische Säurebildung, bei 375 sogar auch das verhältnismäßig gute Wachstum im tiefen Agarstiche bemerkenswert! Nehmen wir ferner die von

[1] Die Stämme 6709, I 7 und I 8 stammen nicht aus dem Institut. Der Stamm 265b wurde erst nachträglich herausgezüchtet (s. oben). Sie sind hier also nicht mitgerechnet, wohl aber die vier von Hrn. Prof. Heymann überlassenen Stämme 1682 bis 2049.



einem geübten Diphtherieuntersucher, wie Neisser, gegebene und begründete Versicherung als richtig an, daß angesichts der außerordentlichen Leistungsfähigkeit der Löfflerplatte als Anreicherungsnährboden für spärliche Diphtheriebazillen kaum jemals ein Diphtheriebacillus im untersuchten Material dem Nachweis entgehen dürfte, so kommen wir zu dem praktischen Schlußurteil, daß die lediglich auf Grund morphologischer Kriterien gestellte Diphtheriediagnose — ein diagnostisches Verfahren, das in der Bakteriologie gewissermaßen einzigartig ist, man vergleiche damit den komplizierten diagnostischen Apparat bei Typhus — in bewunderungswürdiger Weise in der Hand des Geübten das leistet, was wir billigerweise von ihr verlangen können.

Literatur-Verzeichnis.

1. Löffler, *Mitteilungen a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1884. Bd. II. — *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1887. Bd. II.
2. v. Hofmann-Wellenhof, *Wiener med. Wochenschrift.* 1888.
3. Kolisko u. Paltauf, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1889.
4. Ortmannn, Ref. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1889.
5. Roux u. Yersin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1888.
6. Zarniko, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1889. Bd. VI. — *Dissertation.* Kiel 1889. (Zit. nach 16.)
7. Spronck, a) *Compt. rend. de l'Acad. des sciences.* 1889.
   b) *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895.
   c) *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. S. 54.
8. Trumpp, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1896. Nr. 20. (Zit. nach 11.)
9. Escherich, a) *Ebenda.* 1890. S. 8.
   b) *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. Nr. 21.
10. Beck, *Diese Zeitschrift.* 1890.
11. C. Fränkel, a) *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. S. 252.
    b) *Ebenda.* 1897.
    c) *Münchener med. Wochenschrift.* 1898.
12. v. Behring, *Diphtherie.* Bibl. von Coler. 1901.
13. M. Neisser, a) *Diese Zeitschrift.* 1897.
    b) *Hygien. Rundschau.* 1903. S. 705.
    c) *Centralblatt f. Bakteriologie.* I. Abt. Ref. Bd. LVII. Beiheft.

13a. Neisser u. Heymann, *Klin. Jahrbuch.* Bd. VII.

14. Axenfeld, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898.
15. Kurth, *Diese Zeitschrift.* 1898.
16. De Simoni, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1899. Nr. 22/23.
17. Gromakowsky, *Ebenda.* Bd. XXVIII.
18. Zupnik, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 50.
19. Slawyk u. Manikatide, *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX.
20. Babes, *Ebenda.* 1889. Bd. V.
21. Ernst, a) *Ebenda.* 1888. Bd. IV.
    b) *Ebenda.* 1889. Bd. V.
22. Heinersdorf, Graefes *Archiv.* 1898.
23. Spirig, *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXX.
24. Gromakowsky, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1900. Bd. XXVIII.



25. R. O. Neumann, a) *Diese Zeitschrift.* 1902. XL.
b) *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1902. Bd. XXI.

26. Lubowsky, *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXV.

27. Schick u. Ersettig, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1903. Nr. 35.

28. Thiel, *Hygien. Rundschau.* 1907. Nr. 2.

29. Rothe, *Centralblatt f. Bakteriologie.* 1907. Bd. XLIV. S. 618.

30. Conradi u. Troch, *Münchener med. Wochenschrift.* 1912. Nr. 30.

31. Bernhardt u. Paneth, *Centralblatt f. Bakteriologie.* I. Abt. Ref. Bd. LVII. Beiheft.

32. Jacobsthal (zit. nach 31).

33. Heubner, *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX. S. 204 (zit. nach 12).

34. Scheller, a) *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XL.
b) In Kolle-Wassermanns *Handbuch.* 1. Aufl.

35. Reichenbach, *Zeitschrift f. klin. Med.* Bd. XXXVIII. Nr. 4/6.

36. Römer, *Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* 1909.

37. Knebel, *Dissertation.* Gießen 1912.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld.)

Beitrag zur Kenntnis der thermostabilen Serumstoffe und ihrer Bedeutung für die Immunität.

Von

Dr. **P. Schou,**
Kristiania.

Nachdem eine Zeitlang vorwiegend die Alexine und Lysine, d. h. die nur im frischen aktiven Serum bzw. nach Zusatz frischen Serums wirksamen bakterienfeindlichen Stoffe des Blutes untersucht worden waren, wurde in den letzten Jahren von mehreren Seiten auf die Bedeutung thermostabiler Serumstoffe hingewiesen, speziell für die Erklärung der natürlichen Immunität; es ist zum mindesten noch nicht sicher, daß sich diese Stoffe wie die Lysine immunisatorisch steigern lassen, auch sind sie, wenigstens nach Ansicht der meisten Autoren, einfacher, nicht komplexer Natur. Vieles spricht dafür, daß es sich bei diesen Stoffen um Sekretionsprodukte der Leukozyten handelt (Leukine). Bekannt sind thermostabile Bakterizidine schon seit den Untersuchungen von Behring und Nissen. Sie sind dann weiterhin insbesondere durch Schattenfroh und Pirenne von den labilen Serumstoffen prinzipiell getrennt und von Gruber, Pettersson, Bail, Weil, Much, Schneider[1], Dold u. a. in ihrer Beziehung zur Immunität studiert worden.

Nun hat neuerdings Seiffert[2] die vorläufigen Ergebnisse von Untersuchungen mitgeteilt, in denen er an einer großen Reihe verschiedener Erreger und bei einer Anzahl von Tierarten die Frage der Bedeutung der thermostabilen Serumstoffe für die Immunität prüfte. Nach Seiffert

[1] Schneider, *Archiv f. Hygiene.* 1909. Bd. 70. S. 40. — Bezüglich der übrigen Literatur vgl. diese Arbeit und die von Seiffert.

[2] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1912. S. 305.



stehen diese Stoffe in Beziehung zur natürlichen, bisweilen, so bei Typhus, auch zur erworbenen Immunität und zwar in doppelter Weise: bei septikämischen Krankheitserregern ist die Bakterizidie des Serums als Ausdruck der Immunität, bei Krankheitserregern von Endotoxincharakter dagegen als Ausdruck der Empfänglichkeit der betreffenden Tierart oder des betreffenden Individuums anzusehen.

Ich habe nun diese Befunde zunächst an einer kleinen Anzahl von Erregern und an wenigen Tierarten einer Nachprüfung unterzogen, wobei jedoch meist eine Reihe von Serumproben der gleichen Tierart herangezogen wurde; bezüglich der Versuchsanordnung habe ich mich durchaus an die von Seiffert gemachten Angaben angeschlossen. Es sind insbesondere zwei Punkte hierbei von Wichtigkeit, nämlich einmal, daß eine recht kleine Einsaat von Bakterien gemacht wird, und zweitens, daß die Prüfung des Ergebnisses durch Plattenaussaat erst nach etwa 24stündigem Stehen der Röhrchen bei 37° vorgenommen wird. Diese beiden Punkte erscheinen auch auf Grund theoretischer Überlegungen wichtig, und die Versuchsanordnung hierin rationell; denn es ist wohl nicht zu erwarten, daß bei diesen mit der normalen Resistenz in Zusammenhang zu bringenden Serumstoffen eine so starke und so schnell verlaufende bakterizide Wirkung stattfinden sollte, wie das bei den komplexen Bakteriolysinen in der Regel der Fall ist. Vom teleologischen Standpunkt aus betrachtet, würde ja auch zur Abwehr einzelner eingedrungener Keime eine mäßige Bakterizidie durchaus genügen, während für spezifische Immunstoffe, die bei der Bekämpfung einer bereits ausgebrochenen bakteriellen Infektion eine Rolle spielen sollen, nur eine sehr energische und schnelle Wirkung einen Einfluß auf den Krankheitsverlauf haben kann.

In den oben erwähnten Versuchen von Dold erwiesen sich Plasma und besonders Zitratblut meist erheblich wirksamer als inaktives Serum. Wir haben jedoch, um nicht von der Technik Seifferts abzuweichen, uns ausschließlich auf die Untersuchung von Serum beschränkt, wobei wir in einigen Fällen zum Vergleich auch aktives, nicht erhitztes Serum heranzogen.

Das Serum wurde stets $^1/_2$ Stunde bei 56° inaktiviert, die Bakterienaufschwemmungen in der von Seiffert angegebenen Weise durch Verdünnen 24stündiger Bouillonkulturen hergestellt; auch bezüglich der sonstigen Versuchsanordnung sei auf die Arbeit dieses Autors verwiesen. Auf Grund der unten erwähnten Erfahrungen mit Cholera wurde bei einem Teil der Versuche eine erste Aussaat schon nach 4 Stunden gemacht.

Wir haben als Typus der septikämischen Krankheitserreger zunächst die Hühnercholerabakterien benutzt, die ja für Kaninchen und Tauben, sobald sie nur einige Passagen durchgemacht haben, eine so enorme Virulenz besitzen, daß schon kleinste Bruchteile einer Öse bei subkutaner,



intravenöser oder intraperitonealer Einführung in kurzer Zeit mit Sicherheit töten. Zum Vergleich benutzten wir Menschenserum; soviel bekannt, ist ja der Mensch gänzlich unempfänglich für diese Erreger (s. Tabelle I).

Nun entsprechen unsere Ergebnisse mit Kaninchen- und Taubensera völlig der Erwartung. Auch bei kleinster Einsaat trat stets in reinem inaktiven Serum eine außerordentlich starke Vermehrung der Keime auf.

Mit menschlichem Serum machten wir im ganzen neun Versuche, wobei fünf verschiedene Serumproben, die von drei Personen stammten, untersucht wurden. Viermal war das Ergebnis der Erwartung entsprechend: es trat völlige Abtötung ein. In den fünf anderen Versuchen erfolgte dagegen innerhalb 24 Stunden sehr reichliches Wachstum. Doch waren in drei dieser Fälle die benutzten Serumproben bereits über 8 Tage im Eisschrank aufgehoben worden und daher möglicherweise abgeschwächt. Wie wir bei späteren Versuchen sahen, wirkten ältere Proben auch Typhus- und Cholerabakterien gegenüber zuweilen schwächer als frischere, obwohl ja im allgemeinen nach den Untersuchungen von Much und Dold diese stabilen Serumstoffe sich eine Reihe von Tagen lang unverändert zu halten scheinen; auch bei den Versuchen mit Hühnercholera trat noch in einer 17 Tage alten Serumprobe völlige Abtötung ein (Versuch 3). In zwei Fällen wirkten aber auch frische (1- bzw. 3tägige) Sera nach dem Inaktivieren nicht bakterizid. Eines dieser Sera (Sch. III) wirkte übrigens auffallenderweise auch bei den Versuchen mit Cholera nicht bakterizid (vgl. unten). Dagegen fanden wir bei einer Serumprobe, die kurze Zeit vorher derselben Person entnommen worden war, eine vollständige Abtötung der Hühnercholeraerreger (Serum Sch. I der Tabelle).

Hiernach haben wir bei Hühnercholera im Sinne Seifferts bei den hochempfänglichen Tierarten (Kaninchen, Taube) niemals eine Bakterizidie oder auch nur eine Entwicklungshemmung gefunden; bei den Seris der, wie wir annehmen dürfen, durchaus unempfänglichen Menschen waren dagegen die Resultate ungleichmäßig und zwar auch bei Untersuchung verschiedener, demselben Menschen entnommener Serumproben. Es sind also jedenfalls die betreffenden Serumstoffe nicht immer in gleicher Stärke im Blut desselben Individuums vorhanden.

In fünf Fällen haben wir zum Vergleich nicht erhitztes Serum von Menschen untersucht; dreimal, und zwar bei frischen Sera ergab sich fast vollständige Abtötung, zweimal bei alten, nicht mehr komplementhaltigen Serumproben starkes Wachstum.

Bei den Versuchen mit Rotlauf fanden wir im inaktiven Serum von Kaninchen, Tauben und Meerschweinchen ausnahmslos schnelle und starke Entwicklung der eingebrachten Keime. Dies entspricht bei der Taube und dem Kaninchen der hohen Empfänglichkeit dieser Tierarten; dagegen gilt



Tabelle

Sera	Alter des Serums in Tagen	Hühnercholera	
		Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 24 Stunden
Menschenserum U. **inaktiv**	4	4	0
„ U. „	6	15	0
„ U. „	17	9	0
„ U. „	27	15	sehr viele Kolonien
„ Sch. I[1] „	3	2	0
„ Sch. II[2] „	3	15	∞
„ Sch. III „	1	4	∞
„ Sti. „	9	6	sehr viele Kolonien
„ Sti. „	16	16	„ „ „
„ U. **nicht erhitzt**	4	4	0
„ U. „ „	6	14	0
„ U. „ „	35	0	sehr viele Kolonien
„ U. „ „	42	10	∞
„ Sch. III „ „	1	3	1
Kaninchenserum **inaktiv**	—	12	∞
„ „	—	13	∞
„ „	—	0	∞
„ „	—	—	—
„ „	—	—	—
„ „	—	11	viele Kolonien
„ I „	13	7	sehr viele Kolonien
„ II „	4	3	„ „ „
„ III[3] „	5	2	„ „ „
„ IV „	1	2	∞
„ IX[4] „	—	—	—
„ X[4] „	—	—	—
„ XI „	—	—	—
„ II **nicht erhitzt**	4	4	viele Kolonien
„ IV „ „	1	2	∞
Meerschweinchenserum I **inaktiv**	2	—	—
„ II „	1	—	—
„ II „	4	—	—
„ VI „	1	—	—
„ VII „	1	—	—
„ VIII „	1	—	—
Taubenserum I **inaktiv**	2	—	—
„ I „	3	8	∞
„ II „	1	—	—
„ II „	4	—	—

[1] Serum Sch. I blutig. [2] Serum Sch. II stark trübe. [3] Kaninchenserum III

Rotlauf			B. Friedländer		
Serum-agarplatten [so]rt gegossen	Serum-agarplatten nach 4 Stunden	Serum-agarplatten nach 24 Stunden	Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
128	—	∞	—	—	—
29	—	sehr viele Kol.	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
35	etwa 900	sehr viele Kol.	8	etwa 400	∞
39	„ 800	„ „ „	3	„ 50	∞
32	„ 900	∞	11	„ 300	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
67	—	sehr viele Kol.	—	—	—
98	—	viele Kolonien	—	—	—
21	—	sehr viele Kol.	—	—	—
34	etwa 500	„ „ „	27	90	∞
16	„ 500	„ „ „	11	5	∞
23	„ 300	„ „ „	17	etwa 175	∞
58	—	„ „ „	—	—	—
—	—	—	—	—	—
224	—	∞	—	—	—
20	—	∞	—	—	—

blutig.

[4] Kaninchenserum IX und X etwas blutig.



das Meerschweinchen als nahezu unempfänglich, und auch unsere Kultur tötete Meerschweinchen nur bei intraperitonealer Einspritzung großer Dosen. Nun ist allerdings bei diesen Versuchen nach den Ergebnissen von Dold bei Pneumokokken nicht zu erwarten, daß etwa der Ausfall der Versuche in vitro jedesmal der Virulenzprüfung der betreffenden Stämme im Tierversuch entsprechen müßte. Vielmehr hat sich bei diesen Untersuchungen deutlich ergeben, daß hochvirulente und völlig avirulente Stämme der genannten Kokkenarten sich durchaus gleich im bakteriziden Versuch in vitro verhalten; dagegen unterscheiden sie sich nach den Versuchen von zahlreichen Autoren durch ihr Verhalten gegenüber den Opsoninen. Es muß dahingestellt bleiben, ob sich die erwähnten Inkongruenzen bei Rotlauf in ähnlicher Weise erklären lassen; erwähnt sei, daß bei den Versuchen von Neufeld und Schiemann[1] Rotlaufbazillen sich im aktiven Serum von Kaninchen sehr gut entwickelten, nicht dagegen in dem von Meerschweinchen.

Mit dem Bacillus Friedländer haben wir nur wenige Versuche angestellt. In drei Versuchen mit Kaninchen- und in ebensovielen mit Meerschweinchenserum trat stets ein sehr starkes Wachstum ein. Nun war unser Stamm für die beiden Tierarten so wenig virulent, daß eine ganze Öse, subkutan oder intraperitoneal gegeben, die Tiere nicht tötete. Das Ergebnis würde also mit den von Seiffert angenommenen Gesetzmäßigkeiten nicht übereinstimmen. Man könnte allerdings im Sinne der eben gemachten Ausführungen darauf hinweisen, daß die mangelnde Pathogenität für Meerschweinchen nur für bestimmte Stämme des Friedländerschen Bacillus zutrifft; von einigen Autoren sind auch Stämme des Bacillus Friedländer beschrieben worden, die für Kaninchen virulent waren, obwohl ein solches Verhalten offenbar eine Ausnahme darstellt.

Hiernach haben wir also gegenüber Septikämieerregern im inaktiven Serum hochempfindlicher Tiere niemals Bakterizidie gesehen, während die Ergebnisse bei wenig oder gar nicht empfindlichen Tieren unregelmäßig waren.

Als Typus endotoxinbildender Bakterien, die bei der natürlichen Infektion nur vom Darme aus eindringen und nicht als Septikämieerreger auftreten, haben wir Typhus- und Cholerabazillen untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle II wiedergegeben.

Während die Befunde Seifferts bezüglich der Wirksamkeit des erhitzten Serums auf septikämische Krankheitserreger wenigstens großenteils mit den Anschauungen früherer Autoren übereinstimmen, hat der Autor, wie schon oben erwähnt, für die endotoxischen Bakterien ein ganz eigenartiges Verhalten als Regel angenommen: Hier soll umgekehrt das Serum

[1] *Sitzungsbericht der Freien Vereinigung für Mikrobiologie.* 1913.

(und zwar immer das inaktive Serum) der empfänglichen Tierarten bakterizid wirken, das der immunen Tierarten nicht. Ja, Seiffert führt Beispiele dafür an, daß auch die erworbene Immunität gegen diese endotoxischen Erreger sich in derselben Weise dokumentiert; Menschen, die Typhus durchgemacht hatten und daher eine gewisse Immunität besaßen, und Mäuse, die gegen Paratyphusbazillen (sei es infolge spezifischer Vorbehandlung, sei es ohne solche) immun waren, zeigten in einigen von dem Autor untersuchten Fällen ein entgegengesetztes Verhalten ihres Serums, wie nicht immune Vertreter derselben Spezies: ihr Serum wirkte nicht bakterizid. Der Autor nimmt hiernach an, daß auch die individuelle, erworbene Immunität gegen Typhus auf dem Vorhandensein dieser Serumstoffe beruht; wenn diese Ansicht zuträfe, so müßten wir zur Kontrolle des Erfolges einer Schutzimpfung im Blut nach diesen Stoffen, anstatt nach den Pfeifferschen Immunkörpern suchen. Das von Seiffert angenommene Verhalten erscheint zunächst paradox und schwer erklärlich und ist gewiß einer weiteren Nachprüfung wert.

Was nun die Ergebnisse unserer Versuche betrifft, so fanden wir bei Typhus nicht ganz regelmäßige Verhältnisse. Während das zum Vergleich untersuchte, nicht erhitzte menschliche Serum in allen Fällen (außer in einem, wo ein altes, also spontan inaktiviertes Serum benutzt wurde) innerhalb 24 Stunden die eingesäten Keime sicher abtötete, war der Ausfall bei Verwendung inaktiven Serums ziemlich ungleichmäßig. Im ganzen wurden 19 Versuche gemacht, wobei 15 Serumproben, die von elf verschiedenen Personen stammten, benutzt wurden; ein Serum Sch. (das Serum des Verfassers) wurde recht häufig entnommen und untersucht. Von den 19 Versuchen mit inaktivem Menschenserum ergaben acht eine so starke Bakterizidie, daß nach 24 Stunden nur ganz vereinzelte oder gar keine Keime mehr übrig waren. In drei Versuchen fanden sich mäßig viele (etwa 100) Keime, in acht Versuchen aber ein starkes Wachstum. Hierunter befinden sich jedoch ein Bazillenträger und ein Typhusrekonvaleszent (Sera M. und Gr.), also Personen, bei denen nach Seiffert dieser abweichende Ausfall zu erwarten stand. Bei den drei anderen Personen, deren Serum ebenfalls keine Bakterizidie zeigte, war dagegen ein überstandener Typhus nicht nachweisbar. Dabei wurde das Serum einer Versuchsperson (Sch.) vielfach untersucht. Hier ergab sich viermal, und zwar in frischen Proben, reichliches Bakterienwachstum. Daß gerade in diesem Falle das abweichende Verhalten auf einer Immunität gegen Typhus beruhen sollte, ist, von der Anamnese abgesehen, schon deshalb unwahrscheinlich, weil zwei andere Blutproben derselben Person eine vollkommene Bakterizidie aufwiesen. Auf einen weiteren Grund, der gegen den Zusammenhang der Befunde mit einer Typhusempfänglichkeit der betreffenden Personen spricht,



Tabe[illegible]

Sera			Alter des Serums in Tagen	B. Typhi		
				Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden
Menschenserum	Sti.	inaktiv	7	6	—	einzelne Kol.
,,	Sti.	,,	8	18	—	,, ,,
,,	Sti.	,,	10	40	—	wenige K.
,,	Sti.	,,	15	60	—	8
,,	Sch. I[1]	,,	1	41	—	einzelne Kol.
,,	Sch. I	,,	3	38	—	sehr viele Kol.
,,	Sch. II	,,	1	80	—	0
,,	Sch. II	,,	14	—	—	—
,,	Sch. III	,,	1	—	—	—
,,	Sch. III	,,	8	—	—	—
,,	Sch. IV	,,	1	—	—	—
,,	Sch. V	,,	1	36	—	viele Kol.
,,	Sch. VI	,,	1	7	42	einige hundert Kol.
,,	Sch. VI	,,	1	200[2]	über 200	sehr viele Kol.
,,	U.	,,	5	5	—	90
,,	C.	,,	10	—	—	—
,,	L.[3]	,,	2	6	13	recht viele Kol.
,,	L.	,,	3	—	—	—
,,	S.	,,	2	17	19	[illegible]
,,	S.	,,	3	—	—	—
,,	Frau S.[4]	,,	2	9	24	15
,,	Frau S.	,,	3	—	—	—
,,	M.[5]	,,	1	5	29	Etwa 350
,,	M.	,,	2	—	—	—
,,	Gr.[6]	,,	1	9	32	ziemlich viele Kol.
,,	Gr.	,,	2	—	—	—
,,	Sz.	,,	2	62	55	viele hundert Kol.
,,	Kr.	,,	2	50	70	180
,,	Z.	,,	2	30	50	85
Menschenserum	U.	nicht erhitzt	5	10	—	1
,,	U.	,, ,,	7	52	—	ziemlich viele Kol.
,,	U.	,, ,,	12	65	—	1
,,	Sch. III	,, ,,	1	—	—	—
,,	Sch. III	,, ,,	8	—	—	—
,,	Sch. IV	,, ,,	1	—	—	—
,,	Sch. V	,, ,,	1	18	—	0
,,	Sch. VI	,, ,,	1	4	0	0
,,	Sch. VI	,, ,,	1	115[2]	1	0

[1] Serum Sch. I blutig. [2] Große Einsaat. [3] Serum L. stark blutig.
bazillenträger seit 6 Jahren.

L.

Vibrio Cholerae asiat. („El Tor“)			Vibrio Cholerae asiat. („70“)		
garplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden	Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
2	—	0	—	—	—
0	—	∞	—	—	—
2	—	∞	—	—	—
7	—	∞	12	—	∞
2	—	sehr viele Kol.	4	—	∞
—	—	—	2	3	sehr viele Kol.
—	—	—	29	12	„ „ „
—	—	—	—	—	—
2	—	0	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	2	125	sehr viele Kol.
—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	3	20
—	—	—	—	—	—
—	—	—	3	0	1
—	—	—	—	—	—
—	—	—	0	verunreinigt	0
—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	180	sehr viele Kol.
—	—	—	1	0	einige hundert Kol.
—	—	—	0	0	50
—	—	—	0	0	1
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
5	—	2	—	—	—
0	—	0	—	—	—
2	—	0	5	—	0
1	—	0	—	—	—
—	—	—	1	0	0
—	—	—	40	0	0

[4] Serum Frau S. trübe. [5] Typhusrekonvaleszent, gerade fieberfrei. [6] Typhus-

Tabelle II.

Sera	Alter des Serums in Tagen	B. Typhi Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden
Kaninchenserum I inaktiv	4	12	—	∞
„ I „	6	28	—	∞
„ I „	11	80	—	sehr viele Kol.
„ I „	13	6	—	∞
„ II „	1	2	—	0
„ III „	3	60	—	0
„ III „	5	7	—	10
„ III „	18	—	—	—
„ IV „	1	—	—	—
„ IV „	8	—	—	—
„ V „	1	—	—	—
„ V „	9	8	—	∞
„ V „	13	9	90	∞
„ V „	18	15	viele Kolonien	∞
„ VI „	1	8	250	∞
„ VI „	2	—	—	—
„ VII „	1	5	95	∞
„ VII „	2	—	—	—
„ VIII „	1	10	10	∞
„ VIII „	2	—	—	—
Kaninchenserum II nicht erhitzt	1	3	—	0
„ II „ „	2	22	—	sehr viele Kolonien (∞)
„ II „ „	4	30	—	∞
„ IV „ „	1	—	—	—
„ IV „ „	8	—	—	—
„ V „ „	1	—	—	—
„ V „ „	9	10	—	∞
„ V „ „	13	9	12	∞
„ V „ „	13	150	viele Kolonien	∞
Meerschweinchenserum III inaktiv . . .	1	12	250	∞
„ III „ . . .	2	—	—	—
„ IV „ . . .	1	7	65	∞
„ IV „ . . .	2	—	—	—
„ V „ . . .	1	6	70	∞
„ V „ . . .	2	—	—	—

Fortsetzung.)

Vibrio Cholerae asiat. („El Tor")			Vibrio Cholerae asiat. („70")		
garplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden	Agarplatten sofort gegossen	Agarplatten nach 4 Stunden	Agarplatten nach 24 Stunden
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
2	—	sehr viele Kol.	4	—	zieml. viele Kol.
2	—	∞	—	—	—
erunreinigt	—	∞	—	—	—
4	—	∞	4	—	∞
2	—	sehr viele Kol.	3	—	∞
—	—	—	2	viele Kolonien	∞
—	—	—	44	sehr viele Kol.	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	viele Kolonien	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	viele Kolonien	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	1	etwa 90 Kol.	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
2	—	∞	—	—	—
5	—	∞	—	—	—
0	—	0	2	—	0
3	—	sehr viele Kol.	7	—	∞
—	—	—	1	viele Kolonien	∞
—	—	—	44	sehr viele Kol.	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	3	einige hundert Kolonien	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	0	einige hundert Kolonien	∞
—	—	—	—	—	—
—	—	—	0	etwa 150 Kol.	∞

nämlich die mangelnde Elektivität der Serumwirkung kommen wir nach Besprechung der Choleraversuche zurück.

Auch bei einer für die natürliche Typhusinfektion gewiß nicht empfänglichen Tierart, dem Kaninchen, verliefen die Versuche nicht ganz regelmäßig. Unter 13 Versuchen, zu denen sieben verschiedene Serumproben verwendet wurden, fand allerdings in der Mehrzahl der Fälle, nämlich zehnmal, entsprechend Seifferts Befunden ein sehr reichliches Wachstum statt. In den drei anderen Versuchen (mit zwei verschiedenen Serumproben) war dagegen fast völlige Entwicklungshemmung zu konstatieren. Übrigens zeigten auch mehrere Kaninchensera, die durch längere Aufbewahrung komplementfrei geworden waren, keine Bakterizidie. Ein eintägiges aktives Kaninchenserum wirkte dagegen, wie zu erwarten, durch seinen Alexingehalt stark abtötend.

Auch bei einer zweiten, nicht natürlich empfänglichen Tierart, dem Meerschweinchen, stellten wir einige Versuche an. In allen drei Fällen trat, entsprechend den Angaben von Seiffert, niemals Entwicklungshemmung, sondern stets ungehemmtes Wachstum ein.

Bei unseren Versuchen mit Cholerabazillen haben wir zwei verschiedene gut tiervirulente Stämme herangezogen. Im ganzen wurden 18 Versuche mit inaktivem Menschenserum angestellt, und dabei 13 Serumproben, die von neun verschiedenen Personen stammten, untersucht.

Auch hier waren die Ergebnisse nicht völlig regelmäßig. Siebenmal war nach 24 Stunden mehr oder weniger vollständige Abtötung durch das inaktive Menschenserum eingetreten (0 bis 50 Keime in der Plattenaussaat), einmal fanden sich einige 100, zehnmal unzählig viele Cholerakolonien. Da wir annahmen, daß dieses abweichende Ergebnis vielleicht zum Teil darauf beruhte, daß zunächst zwar eine teilweise Abtötung, alsdann aber ein erneutes Wachstum der Keime eingetreten war, so haben wir eine Anzahl Sera auch in der Weise geprüft, daß nicht nur nach 24, sondern bereits nach 4 Stunden eine Plattenaussaat gemacht wurde. Bei fünf derartigen Untersuchungen ergab sich in der Tat dreimal nach 4 Stunden starke Entwicklungshemmung, während nach 24 Stunden starkes Wachstum vorhanden war. In zwei anderen Fällen waren jedoch, ähnlich wie wir es gelegentlich bei Kaninchensera sahen, schon nach 4 Stunden mehr als 100 Kolonien in der Plattenaussaat vorhanden. Sehr bemerkenswert ist nun, daß diese beiden Sera, die so außerordentlich geringe Bakterizidie gegenüber den Cholerabazillen zeigten, auch in den Versuchen mit Typhus sehr reichliches Wachstum ergaben. Wir kommen auf diese Parallelität, die sich auch sonst zeigte, noch zurück.

Regelmäßiger war der Ausfall der Versuche mit inaktivem Kaninchenserum. Hier fand stets, ebenso wie übrigens in alten, nicht erhitzten

Kaninchensera sehr starkes ungehindertes Wachstum der Vibrionen statt. Ein frisches aktives Kaninchenserum wirkte stark bakterizid, ein anderes nicht.

Meerschweinchenserum in inaktivem Zustande wirkte in drei Versuchen niemals hemmend auf Choleravibrionen.

Hiernach ist, insbesondere wenn sowohl nach 4 wie nach 24 Stunden Plattenaussaaten gemacht wurden, fast stets ein Unterschied in dem Verhalten des inaktiven Serums gegen Choleravibrionen zwischen Menschenserum auf der einen, Kaninchen- und Meerschweinchenserum auf der anderen Seite zutage getreten. Nur zweimal ergaben sich mit Menschenserum solche Befunde, wie sie gelegentlich bei etwas stärker wirksamen Proben von Kaninchen- und Meerschweinchenserum auftraten; dagegen war eine mehr oder weniger vollständige Entwicklungshemmung bei Aussaat nach 24 Stunden nur bei einer Minderzahl der menschlichen Serumproben festzustellen.

Wenn wir uns nun fragen, was für Schlußfolgerungen aus den Versuchen mit Typhus und Cholera zu ziehen sind, so haben unsere Versuche in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, aber nicht durchweg die Befunde von Seiffert bestätigt: Inaktives Kaninchen- und Meerschweinchenserum wirkt bei der angewandten Technik im allgemeinen nicht bakterizid auf die genannten beiden Erreger, während im Menschenserum in der Regel deutliche Bakterizidie oder doch Entwicklungshemmung stattfindet. Ein Teil unserer abweichenden Befunde gleicht sich, wie soeben hervorgehoben, aus, wenn auch nach vierstündiger Prüfung schon eine Aussaat gemacht wird. Dennoch läßt sich nicht in jedem Falle inaktives Menschen- und Kaninchenserum prinzipiell bezüglich der Wirkung auf Cholera- und Typhusbazillen unterscheiden.

Wenn man nun versuchen wollte, solche Abweichungen damit zu erklären, daß die betreffenden Menschen eben immun gewesen seien, so ist zunächst auffallend, daß, wenn derselben Person zu verschiedenen Zeiten Blut entnommen wurde, bisweilen recht verschiedene Ergebnisse erhalten wurden. Noch wichtiger scheint uns aber ein anderer Punkt. Diejenigen Blutproben, die sich bei der Prüfung mit Typhusbazillen abweichend verhielten, indem sie nicht bakterizid wirkten, zeigten dasselbe Verhalten gegenüber Cholerabazillen. Diese Parallelität findet sich auch bei dem Serum des Typhusträgers Gr. Auch hier darf man daher wohl kaum annehmen, daß die mangelnde Wirkung auf Typhusbazillen mit einer erworbenen Immunität gegen Typhus etwas zu tun hat. Auch bei den verschiedenen Blutentnahmen von Sch. zeigt sich dieselbe Parallelität. Die Probe II ist sowohl gegen Typhus wie gegen Cholera stark wirksam, die Proben V und VI sind gegen beide Erreger unwirksam. Auch hier ist also wenigstens von einer vollständigen Spezifität der Wirkung keine Rede.



Wir kommen also zu dem Schluß, daß im inaktiven Serum von Menschen im allgemeinen im Gegensatz zum Kaninchen- und Meerschweinchenserum bakterizide bzw. entwicklungshemmende Stoffe gegen Typhus- und Cholerabazillen vorhanden sind, daß aber ziemlich häufige Ausnahmen von dieser Regel vorkommen, und daß diese Ausnahmen vermutlich nicht mit einer spezifischen Resistenz der Individuen in Zusammenhang stehen.

Wenn aber auch alle Versuche gleichmäßig im Sinne Seifferts ausgefallen wären, d. h. wenn alle Menschensera im inaktiven Zustande deutlich bakterizid auf Typhus und Cholera und ebenso umgekehrt alle Sera von Kaninchen und Meerschweinchen nicht bakterizid gewirkt hätten, so würden wir dennoch Bedenken tragen, mit Seiffert anzunehmen, daß dieses Verhalten mit der Empfänglichkeit für die Infektion in Zusammenhang stände, daß also paradoxerweise gegenüber den sogenannten endotoxischen Bakterienarten die bakteriziden Kräfte des Serums eine Empfänglichkeit bedingen. Einen solchen Schluß würden wir weit eher geneigt sein zu ziehen, wenn sich etwa bei einem Experimentum crucis mit zwei verschiedenen endotoxischen Bakterien und zwei verschiedenen Tierarten gezeigt hätte, daß die eine nur für das Bacterium A empfängliche Tierart dieses Bacterium, aber nicht das Bacterium B durch ihr Serum beeinflußt, während umgekehrt die zweite nur für das Bacterium B empfängliche Tierart das entgegengesetzte Verhalten zeigen würde. Ein derartiger Versuch mit endotoxinbildenden Bakterien liegt aber weder bei den Seiffertschen, noch bei unseren Versuchen vor. Die Befunde könnten wenigstens in den von uns untersuchten Fällen auch ganz anders und einfacher erklärt werden, nämlich durch die Annahme, daß die thermostabilen bakteriziden Serumstoffe, die in diesen Versuchen zum Ausdruck kommen, nicht oder doch nur in geringem Grade elektiv gegenüber verschiedenen Bakterienarten wirken, und daß das Serum bestimmter Tierarten, in unserem Falle das menschliche Serum, in der Regel überhaupt mehr von diesen Stoffen enthält als die Sera anderer Tierarten, so daß seine Wirkung allen von uns untersuchten Bakterien gegenüber durchschnittlich stärker ist.

Wir möchten allerdings noch keinen definitiven Schluß in diesem Sinne ziehen, sondern halten weitere Untersuchungen, z. B. an Typhusträgern, mit Berücksichtigung der Frage nach der Elektivität der Serumwirkung für wünschenswert; insbesondere würden auch weitere exakte Versuche mit den Sera verschiedener Tierarten bzw. verschiedener Tiere derselben Art, deren Immunität experimentell geprüft wird, also ähnliche Versuche, wie sie von Seiffert an den Sera einiger Mäuse mit Paratyphusbazillen angestellt und als Bestätigung seiner Auffassung gedeutet worden sind, zur Klärung der vorliegenden Frage beitragen.

[Aus dem hygienischen Institut der Kgl. Universität Berlin.]
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **Flügge**.)

Zur Kenntnis des Salzgehaltes der täglichen Nahrung des Menschen.

Von

Stabsarzt Dr. **Hornemann**,
früher kommandiert zum Institut.

Die Bedeutung der Mineralstoffe für die Ernährung bzw. ihre Aufgabe im Stoffwechsel ist erst in der neueren Zeit richtig eingeschätzt worden. Wenn man ihre Rolle, die sie zu spielen haben, vom Standpunkt des Kraftwechsels betrachtet, so erscheint sie klein, ja wertlos: die Salze werden ohne Veränderung vom Körper wieder ausgeschieden, sie entwickeln keine Wärme. Aber sie bilden doch einen für den Stoffwechsel des Körpers sehr notwendigen Anteil. Über ihre Aufgabe, die sie im Körper zu leisten haben, schreiben Albu und Neuberg[1]: „Die Salze sind Zell- und Gewebsbildner, sie sind am Aufbau, am Wachstum und an der Neubildung alter Gewebe des Organismus in verschiedenem Grade beteiligt. Sie vermitteln die osmotische Spannung in den Zellen und Geweben, in Blut und Säften und sind dadurch indirekte Träger von Energie. Sie regulieren die Reaktion des Blutes und der Gewebssäfte sowie den Ablauf vieler Fermentwirkungen, besonders im Verdauungskanal. Sie wirken als Katalysatoren für eine große Reihe chemischer Vorgänge im Organismus, sie wirken z. B. als Sauerstoffüberträger für die Oxydationen; sie erzeugen die Veränderungen der Eiweißkörper im Zellprotoplasma, die mit den Funktionen derselben untrennbar verbunden sind. Sie sind die Vermittler

[1] Albu u. Neuberg, *Physiologie und Pathologie des Mineralstoffwechsels.* Berlin 1906.



der im lebenden Protoplasma ununterbrochen ablaufenden autochthonen Vergiftungs- und Entgiftungsprozesse, wobei sie sich durch ihren teilweisen Antagonismus das Gleichgewicht halten. Sie vermitteln wahrscheinlich einen großen Teil der sog. intermediären Stoffwechselprozesse, anscheinend besonders dort, wo sie sich in den drüsigen Organen abspielen. Sie greifen allenthalben Richtung gebend in die Zersetzung und Assimilation der organischen Substanzen ein.“

Unter den zum Aufbau des menschlichen Körpers erforderlichen Nährsalzen nehmen die Erdalkalien Kalk und Magnesia einen hervorragenden Platz ein. Von diesen beiden ist es wiederum der Kalk, der für die menschliche Gesundheit die wichtigere Rolle spielt. Auch der Phosphor und das Eisen sind Mineralstoffe, deren dauernde Zufuhr für den Körper eine Notwendigkeit ist. Bei der Wichtigkeit dieser Mineralstoffe ist es erforderlich, daß sie mit der Nahrung in einer für den Stoffwechsel genügenden Menge dem Körper zugeführt werden.

Es herrschte nun bisher fast allgemein die Ansicht vor, daß sie tatsächlich in der üblichen täglichen Nahrung reichlich enthalten sind, so daß der Körper niemals daran Mangel leidet. Aber in jüngster Zeit sind Stimmen laut geworden, die nicht unter allen Umständen diese Ansicht für richtig halten. Besonders von zahnärztlicher Seite ist wiederholt darauf hingewiesen, daß gar nicht so selten unsere Nahrung zu kalkarm ist, und daß der Kalkmangel nicht nur der Zahnverderbnis in erschreckendem Maße Vorschub leistet, sondern auch den Ausbruch anderer Krankheiten und Entartungsprozesse begünstigt. Einer der Hauptverfechter obiger Ansicht ist Röse[1]; er erblickt die unmittelbarste Ursache dieser Erscheinungen in der Kalkarmut der Trinkwässer. An der Hand statistischer Betrachtungen sucht er nachzuweisen, daß der dauernde Genuß weichen Wassers die Zahnverderbnis begünstige. Das Resultat seiner Untersuchungen, die er an Schulkindern und Musterungspflichtigen anstellte, gipfelt in dem Satze: je härter die Trinkwässer, desto geringer die Zahl der kranken Zähne. Auch einen indirekten Einfluß auf die Beschaffenheit der Zähne glaubt Röse von dem Kalkgehalt des Trinkwassers herleiten zu müssen, indem nämlich durch reichlicheren Kalkgehalt die Alkaleszenz und Menge des Speichels gesteigert werden, und ein stark alkalischer Speichel das beste Schutzmittel gegen Zahnverderbnis ist. Röse geht noch weiter: auch auf die Militärtauglichkeit übt nach seinen Untersuchungen der Kalkgehalt des Trinkwassers einen bestimmenden Einfluß aus: je härter das Trinkwasser, desto höher ist der Prozentsatz der militärtauglichen jungen Leute. Auch die Stillfähigkeit der Frauen

[1] Röse, *Salzarmut und Entartung.* Berlin 1908.



soll mit dem Kalkgehalt des Trinkwassers wachsen und die Häufigkeit der Rachitis mit der Vermehrung der Wasserhärte abnehmen.

v. Bókay[1] empfiehlt den Gebrauch von „erdigen Mineralwässern", d. h. von Wässern mit großem Kalkgehalt, während der Schwangerschaft und Laktation. Auch hält er es für rationell, für die ganze Zeit der Entwicklung des Skeletts das Trinkwasser durch erdige Quellen zu ersetzen, da er der Überzeugung ist, daß es auf diese Weise gelingen würde, eine Generation von höherem Wuchs und mit kräftigeren Knochen zu erziehen.

Auch in populären Schriften werden die Folgen einer Mineralstoffunterernährung weiter Schichten unseres Volkes meist ohne genügende Beweise und in stark übertriebener Weise geschildert. So behauptet Zahnarzt Kunert[2], daß in gleichem Grade, wie die Zähne der Kinder schlechter werden, sich auch ihr Gewicht und ihre Körpergröße verringert. Eine Folge hiervon sei verminderte geistige Leistungsfähigkeit; je schlechter die Zähne, um so schlechter seien im Durchschnitt die Zensuren.

Auch Zahnarzt Baden[3] hält unsere Kost für zu nährsalzarm und führt auf diese Salzarmut eine Anzahl krankhafter Erscheinungen zurück.

Ferner macht Apotheker G. Hoffmann-Dresden[4] darauf aufmerksam, daß unsere gewöhnliche tägliche Nahrung, wie das Fleisch der Schlachttiere, die Mehl-, Gemüse-, Obstarten, auch die Tiermilch und unsere Leitungswässer meist zu arm gerade an solchen Elektrolyten (organgünstigen Mineralstoffen) sind, die saure Stoffwechselprodukte binden, die Knochen und Zähne befestigen, eine normale Herz- und Nerventätigkeit gewährleisten usw.

Zur Behebung dieser vermeintlichen Salzunterernährung empfehlen die genannten Arbeiten die Beschaffung harten Trinkwassers und, wenn das nicht möglich, den Genuß kalkreicher Mineralwässer; ferner ausgiebigen Genuß der salzreichen Hülsenfrüchte und vor allem eines Brotes, das die wichtigen Salzbestandteile des Kornes uneingeschränkt besitzt, schließlich die Einschränkung des Gebrauches salzarmer Nahrungsmittel wie Fleisch, Eier und der jetzt üblichen „verfeinerten" Brotsorten.

[1] v. Bókay, Vernachlässigte Indikationen erdiger Quellen. *Zeitschrift für Balneologie, Klimatologie und Kurort-Hygiene.* Jahrg. III. Nr. 17.

[2] Kunert, *Unsere heutige falsche Ernährung als letzte Ursache für die zunehmende Zahnverderbnis und die im ganzen schlechtere Entwicklung unserer Jugend.* Breslau.

[3] Baden, *Teuerung, Nahrung, Entartung. Unsere heutige Ernährungsweise, eine schwere Gefahr für die Zukunft des Volkes.* Berlin 1910.

[4] Hoffmann, *Die neuesten naturwissenschaftlichen Erkenntnisse über unsere natürlichen Schutzmittel in den Körpersäften gegen Krankheitserreger aller Art.*

Neuerdings betonen **Emmerich** und **Löw**[1] die große Bedeutung einer reichlichen Kalkzufuhr für die menschliche Gesundheit und empfehlen zur Sicherheit eine Zugabe von Chlorcalcium zur täglichen Nahrung (Chlorcalciumbrot). Ob freilich in der üblichen Kost des Menschen wirklich ein Kalkmangel zutage tritt, der pathologisch wirkt, darüber haben Emmerich und Löw Untersuchungen nicht angestellt; sie haben nur beobachtet, daß bei zahlreichen Menschen mit Ernährungsstörungen Chlorcalcium eine günstige Wirkung äußert.

Gegen die Untersuchungen und Anschauungen Röses wendet sich in energischer Weise Gärtner.[2] Er weiß sich in dieser Beziehung eins mit dem Verein der Ärzte Nordhausens, der Stadt, von deren früheren und jetzigen örtlichen Wasserverhältnissen Röse seine Behauptungen über den Einfluß salzarmen Trinkwassers auf die Zahnbeschaffenheit und Militärtauglichkeit mit herleitet. Gärtner bestreitet diesen Einfluß und behauptet sogar, indem er sich auf Mitteilungen von Hammarsten und Munck beruft, daß kalkarmes und kalkreiches Wasser gesundheitlich gleichwertig seien, da in der Nahrung sicher unter allen Umständen Kalk in ausreichender Menge und zwar in gut resorbierbarer Form vorhanden sei.

Angesichts dieser Widersprüche ist zunächst eine Feststellung darüber nötig, welche Mengen von Salzen, speziell von Calcium, Eisen usw. der menschliche Körper bedarf.

Wie bei anderen Nährstoffen hat man dies zu erkennen gesucht aus Stoffwechselversuchen, bei denen ermittelt wird, mit welcher Zufuhr der betreffenden Stoffe sich der Körper im Gleichgewicht hält, so daß Zufuhr und Ausscheidung gleich sind, und weder eine Zubuße vom Körper noch eine Retention stattfindet.

Solche Versuche ergaben nach Kochmann[3] insofern allerdings kein allgemein gültiges Resultat, als von ihm nachgewiesen ist, daß die Größe der notwendigen Zufuhr von Kalk (und vermutlich auch von anderen Salzen) nach der Form der Zuführung, nach der Zusammensetzung der Nahrung und nach der Individualität der Versuchspersonen erheblich schwankt.

Man wird daher nur gewisse Mittelzahlen schätzungsweise aufstellen können. Bezüglich des Kalkes war Bertram[4] mit 0·4 grm CaO, Renvall[5]

[1] Emmerich u. Löw, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1913. Nr. 26.
[2] Gärtner, Wider den Stauteich. *Gesundheits-Ingenieur.* 1902. S. 175.
[3] Kochmann, *Biochemische Zeitschrift.* Bd. XXVII. S. 85.
[4] Bertram, *Zeitschrift f. Biologie.* 1878. Bd. XIV.
[5] Renvall, *Skand. Archiv f. Physiologie.* Bd. XVI. S. 94.



mit 0·96 bzw. 1·2 grm CaO im Gleichgewicht. Nach Aron[1] sind 0·5 bis 1·0 grm CaO in der täglichen Nahrung genügend, nach Gumpert[2] 0·4 bis 0·5 grm CaO. — Albu und Neuberg[3] schätzen das tägliche Kalkbedürfnis des gesunden Erwachsenen auf 1 bis 1·5 grm CaO; Oberndörffer[4] auf 1·2 bis 1·8 grm CaO. — Nimmt man den ungefähren Durchschnitt, so läßt sich der Bedarf des erwachsenen Menschen an Kalk mit 0·74 bis 1·2 grm beziffern.

Der tägliche Bedarf des Menschen an Eisen ist nach allgemeiner Annahme ein sehr geringer. Albu-Neuberg (a. a. O.) schätzen ihn auf 0·02 grm Fe, v. Wendt[5] auf 0·02 bis 0·03 grm.

Das Phosphorbedürfnis des Organismus schätzt Livén[6] auf mindestens 0·7 bis 0·8 grm pro Tag; Ehrström[7] auf 1·0 bis 2·0 grm; Maurel[8] auf 1·2 bis 1·4 grm; v. Wendt[9] auf 0·7 grm. Das Mittel würde etwa 1·25 grm sein.

Den Bedarf an Magnesia schätzen Bunge[10], Bertram und Renvall (a. a. O.) auf 0·6 grm, Gumpert (a. a. O.) auf 0,3 grm.

Zum Teil stützen sich die vorstehenden Schätzungen einfach auf die berechnete Menge an Salzen, die auf Grund von Analysen in den verzehrten Nahrungsmitteln angenommen werden müssen, nur zum kleineren Teil beruhen sie auf Stoffwechselversuchen. Wir sind daher über den tatsächlichen Bedarf eigentlich noch recht ungenügend orientiert.

Trotzdem können wir wohl eine Antwort auf die Frage bekommen, ob die tägliche Nahrung im allgemeinen den Bedarf an Salzen deckt, wenn wir uns des Verfahrens bedienen, das auch zur Feststellung des Bedarfs des Menschen in bezug auf Eiweiß, Fett und Kohlehydrate vielfach mit Erfolg angewendet ist und eine wichtige Ergänzung der auf anderem Wege gefundenen Ziffern geliefert hat: Die seit Jahren gewohnte, frei gewählte oder nach langjähriger Erfahrung bemessene Kost gesunder Menschen wird auf ihren Gehalt an Nährstoffen und Salzen untersucht. Die darin gefundene Menge von Salzen ist sicher als ausreichend anzusehen; höchstens ist möglicherweise das erforderliche Quantum überschritten.

---

[1] Aron, *Therap. Monatshefte.* 1907. S. 194.

[2] Gumpert, *Med. Klinik.* 1905. Nr. 41.

[3] Albu u. Neuberg, a. a. O.

[4] Oberndörffer, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1904. Nr. 41.

[5] v. Wendt, *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere* von Oppenheimer. S. 561.

[6] Livén, *Skand. Archiv f. Physiologie.* 1901. Bd. XI.

[7] Ehrström, *Ebenda.* 1903. Bd. XIV.

[8] Maurel, *Soc. biol.* Vol. LVI. p. 751.

[9] v. Wendt, a. a. O.

[10] Bunge, *Zeitschrift f. Biologie.* Bd. X. — *Archiv f. Physiologie.* 1886.



Bei diesem Verfahren muß die Untersuchung allerdings nicht an den rohen Nahrungsmitteln erfolgen, sondern an der wirklich verzehrten Kost. Besonders wichtig ist dies bei der Ermittelung der Salze. Diese sind in den sog. Abfällen, die von den eingekauften Nahrungsmitteln in der Küche abgeschieden werden, oft besonders reichlich enthalten. Ferner werden die meisten Speisen so bereitet, daß zunächst ein Erhitzen mit Wasser stattfindet, das dann, nachdem es erhebliche Mengen Salze aufgenommen hat, fortgegossen wird; in anderen Fällen werden absichtlich oder z. B. beim Zufügen sehr harten Wassers absichtslos Salze zugefügt. Auch eine Berechnung der einzelnen Ingredienzien in der wirklich genossenen fertigen Kost und die Bezifferung ihres so außerordentlich verschiedenen Gehalts an Salzen ist sehr unsicher und kann kaum zu einer annähernden Schätzung führen.

Nun liegen zwar aus früherer Zeit Bestimmungen der Asche und der einzelnen Salze reichlich vor; aber diese Analysen betreffen eben nur die einzelnen rohen Nahrungsmittel, nicht die wirklich genossene gemischte Kost des Menschen.

Erst in neuester Zeit (1910), nachdem ich bereits die vorliegende Arbeit begonnen hatte, haben von zwei Seiten Erhebungen über den Salzgehalt der menschlichen Kost stattgefunden. Die eine hat Tigerstedt[1] in Helsingfors an finnländischer Landbevölkerung angestellt; die andere Untersuchung betrifft Erwachsene verschiedenen Berufs aus dem Osten der Vereinigten Staaten und ist von Sherman, Mettler und Sinclair[2] ausgeführt.

Tigerstedts Beobachtungen beziehen sich auf insgesamt 64 verschiedene Individuen, und zwar 3 Kinder im Alter von 2 bis 3, 9 Kinder im Alter von 4 bis 7, 11 Kinder im Alter von 8 bis 11, 4 Mädchen im Alter von 12 bis 16, 5 Jünglinge im Alter von 12 bis 16 Jahren, 21 erwachsene Frauen und 11 erwachsene Männer. An 8 dieser Personen wurden zwei Beobachtungsreihen gemacht, so daß die Gesamtzahl der Beobachtungen 72 beträgt. Die Zahl der Beobachtungstage beträgt in 49 Fällen 7, in 11 Fällen 4 und in 12 Fällen 3, also insgesamt 423. Untersucht wurde der Gehalt an Phosphor, Kalk und Magnesia. Die Mineralbestandteile des Trinkwassers wurden nicht berücksichtigt. Eine übersichtliche Zusammenstellung der Durchschnittswerte an genannten Mineralstoffen zeigt folgende Tabelle, die ich der Arbeit Tigerstedts entnehme:

[1] Tigerstedt, *Skand. Archiv f. Physiologie.* 1910. Bd. XXIV.

[2] Sherman, Mettler u. Sinclair, *U. St. Dep. of agriculture.* Washington 1910.



Tabelle I.

Charakteristik	P_2O_5 grm	Auf P be- rechnet grm	CaO grm	Auf Ca be- rechnet grm	MgO grm	Auf Mg be- rechnet grm
Kinder, 2—3 Jahre . .	2·7	1·18	2·21	1·58	0·39	0·24
„ , 4—7 „ . .	4·41	1·93	2·58	1·84	0·64	0·39
„ , 8—11 „ . .	5·83	2·55	3·32	2·37	0·97	0·59
Mädchen, 12—16 „ . .	7·08	3·09	3·10	2·21	1·47	0·89
Jünglinge, 12—16 „ . .	7·07	3·09	2·82	2·01	1·17	0·71
Erwachsene Frauen . . .	6·35	2·77	3·20	2·29	1·10	0·66
„ Männer . . .	9·92	4·33	5·31	3·79	1·81	1·09

Nach der Kalorienzufuhr gruppiert, ergibt sich:

Tabelle II.

Kalorien	P_2O_5 grm	Auf P berechnet grm	CaO grm	Auf Ca berechnet grm	MgO grm	Auf Mg berechnet grm
> 4000	10·86	4·74	6·10	4·36	2·02	1·22
4000—3500	9·46	4·13	3·79	2·71	1·85	1·12
3500—3000	8·18	3·57	4·02	2·87	1·53	0·92
3000—2500	6·93	3·03	3·51	2·51	1·23	0·74
2500—2000	5·64	2·46	2·96	2·11	1·03	0·62
2000—1500	5·12	2·24	2·85	2·04	0·78	0·47
1500—1000	3·36	1·47	2·34	1·67	0·51	0·31
< 1000	2·44	1·07	2·21	1·58	0·37	0·22

Der auffallend hohe Gehalt der Nahrung der finnländischen Landbevölkerung an Phosphor, Kalk und Magnesia ist anscheinend hauptsächlich auf den Genuß verhältnismäßig großer Mengen von Milch zurückzuführen (Frauen 1 kg, Männer 1·5 kg täglich!).

Die Ergebnisse für die amerikanischen Versuchspersonen (die höchstens 0·25 kg Milch genossen) sind in Tabelle III und IV zusammengestellt.

Nach dem Erscheinen dieser beiden Publikationen glaubte ich anfangs meine eigene Untersuchung als nunmehr überflüssig abbrechen zu sollen. Aber es besteht doch zwischen beiden Untersuchungsreihen, namentlich in den Werten für Kalk, eine so außerordentlich große Differenz, daß für den Konsum und den Bedarf unserer heimischen Bevölkerung eigentlich gar keine Folgerungen aus jenen Zahlen gezogen werden können. Ich habe es daher nicht für überflüssig gehalten, wenigstens über zwei der wichtigsten und am stärksten differierenden Aschebestandteile, Ca und Fe, eine Untersuchung an der Kost von Menschen durchzuführen, die verschiedenem Alter und verschiedenen Berufsklassen angehören.



Tabelle III.

Lfde. Nr.	Charakteristik	Kalorien	P_2O_5 grm	Auf P berechnet grm	CaO grm	Auf Ca berechnet grm	MgO grm	Auf Mg berechnet grm
1.	Arbeiter, Maine	6780	5·88	2·59	1·27	0·90	1·21	0·73
2.	Neger-Farmer, Alabama . .	4955	3·25	1·43	0·21	0·15	0·74	0·44
3.	Mechaniker, Tennessee . .	4060	3·58	1·58	0·90	0·64	0·72	0·43
4.	Studentin, ebenda	3595	4·05	1·78	1·22	0·87	0·63	0·38
5.	„ „	3560	2·08	0·92	0·46	0·33	0·34	0·20
6.	Farmer, Connecticut . . .	3545	3·53	1·55	1·15	0·82	0·55	0·33
7.	Weibl. Student, Ohio . . .	3330	2·88	1·27	0·97	0·69	0·67	0·40
8.	Maler, Pittsburg	3305	3·44	1·51	0·90	0·64	0·48	0·29
9.	Jurist, „	3280	2·82	1·24	0·83	0·59	0·40	0·24
10.	Lehrer, Chicago	3260	3·97	1·75	1·09	0·77	0·55	0·33
11.	„ , New York	3180	3·92	1·72	1·69	1·20	0·54	0·32
12.	Glasbläser, Pittsburg . . .	3085	2·73	1·20	0·49	0·35	0·36	0·22
13.	Farmer, Tennessee. . . .	2820	3·56	1·57	0·83	0·59	0·59	0·35
14.	Lehrer, Indiana	2780	3·64	1·60	1·42	1·01	0·44	0·26
15.	Arbeiter, Pittsburg . . .	2525	2·40	1·06	0·50	0·36	0·34	0·20
16.	„ , „ . . .	2440	1·52	0·67	0·40	0·28	0·19	0·11
17.	„ , New York . . .	2430	2·27	1·00	0·50	0·36	0·29	0·17
18.	„ , „ . . .	2335	2·41	1·06	0·47	0·33	0·30	0·18
19.	Neger, Alabama	2240	2·05	0·90	0·08	0·06	0·52	0·31
20.	Näherin, New York . . .	1500	1·84	0·81	0·68	0·48	0·23	0·14

Die Durchschnittswerte ergibt folgende Tabelle:

Tabelle IV.

Charakteristik	P_2O_5 grm	Auf P berechnet grm	CaO grm	Auf Ca berechnet grm	MgO grm	Auf Mg berechnet grm
Erwachsene Männer .	3·186	1·40	0·796	0·57	0·514	0·31
„ Frauen .	2·74	1·21	0·832	0·59	0·47	0·28

Die Tagesportionen bezog ich zum Teil aus einer geschlossenen Anstalt, dem Asyl für Obdachlose zu Berlin, während im übrigen freigewählte Kostsätze zur Analyse kamen. Die letzteren stammten von sieben Personen, von denen vier erwachsene Männer, zwei erwachsene Frauen und ein Kind von 6 Jahren waren. Die Zahl der Beobachtungstage betrug 18.

Es wurde genau darauf geachtet, daß die Portionen, die zur Untersuchung kamen, auch wirklich dieselbe Zusammensetzung wie die genossenen hatten.



Da auch eine Kenntnis darüber wünschenswert erschien, wieviel der Gehalt der einzelnen verzehrten Nahrungsmittel an den genannten Salzen beträgt, wurden bei sechs Untersuchungen die einzelnen Speisen, aus denen sich die Tagesportion zusammensetzte, gesondert verascht und ihr Gehalt an Ca und Fe bestimmt. Die übrigen Untersuchungen gestalteten sich so, daß jedesmal die ganze Tagesportion bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, fein zerrieben und gehörig gemischt wurde; dann wurde ein bestimmter Bruchteil zur Analyse verwandt, und aus dessen Gehalt an Ca und Fe der Gehalt der gesamten Tagesportion an diesen Mineralstoffen berechnet.

Die Analysen wurden im einzelnen folgendermaßen ausgeführt (nach Hoppe-Seyler, Analyse):

Nach Trocknung geschah die Veraschung auf nassem Wege nach A. Neumann. Von dem kräftig wirkenden Oxydationsgemisch aus Salpeter- und Schwefelsäure wurden etwa 5 bis 10 ^{ccm} in einen Rundkolben gegossen, in dem sich eine bestimmte Menge der zu veraschenden Substanz befand. Der Kolben wurde mit kleiner Flamme erwärmt. Nach dem Nachlassen der Entwicklung von braunen Nitrosodämpfen wurde aus einem Hahntrichter tropfenweise weiteres Gemisch hinzugetan, bis ein Nachlassen der Reaktion eintrat, und die Intensität der braunen Dämpfe abgeschwächt erschien. Die Substanzzerstörung galt als vollständig, wenn nach Unterbrechung des Hinzufließens des Säuregemisches, aber weiterer Erhitzung die Flüssigkeit im Kolben sich nicht mehr dunkler färbte. Nach dem Erkalten der letzteren wurde etwa dreimal soviel Wasser zugefügt, als Säuregemisch verbraucht wurde und nun noch 5 bis 10 Minuten gekocht.

Die Kalkbestimmung geschah so, daß eine bestimmte Menge der durch die Veraschung erhaltenen Lösung mit Wasser verdünnt, kurz aufgekocht und in ein Becherglas übergeführt wurde. Sodann wurde ein 4- bis 5faches Volum Alkohol unter Umrühren zugesetzt, die Flüssigkeit auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich der Niederschlag flockig abgesetzt hatte. Nach etwa 12 Stunden wurde letzterer dann abfiltriert, mit 85prozentigem Alkohol gewaschen, und Filter mit Niederschlag im gewogenen Platintiegel verascht. Das gewonnene Calciumsulfat wurde gewogen und auf Calciumoxyd und Calcium umgerechnet.

Die Eisenbestimmung wurde folgendermaßen ausgeführt: Die mit Wasser verdünnte und 10 Minuten lang gekochte Aschenlösung wurde nach dem Abkühlen und dem Zusatz von 10 ^{ccm} Eisenchloridlösung (= 2 ^{mg} Fe) als Kontrolle mit 20 ^{ccm} Zinkreagens (25·0 ^{grm} Zinksulfat + 100·0 ^{grm} Natriumphosphat + verdünnte Schwefelsäure zum Lösen des Niederschlags + Aqu. dest. ad 1000 ^{ccm}) und dann mit Ammoniak versetzt, bis der auftretende weiße Niederschlag eben verschwand. Dann wurde bis zur Bildung einer kristallinischen Trübung und noch 10 Minuten länger erhitzt. Der kristallinisch abgeschiedene Niederschlag wurde durch Dekantieren von der Flüssigkeit getrennt, die nach Zusatz von Salzsäure und Rhodankalium keine Rotfärbung mehr zeigen durfte, und mehrmals mit heißem Wasser ausgewaschen. Das letzte Waschwasser durfte keine Jod freimachenden Substanzen mehr enthalten



(Prüfung mit Jodkalium, Stärkelösung und einigen Tropfen Salzsäure). Sodann wurden Trichter und Filter zweimal mit verdünnter heißer Salzsäure gewaschen, und diese Waschflüssigkeit in dem Kolben, in dem sich noch der größte Teil des Niederschlages befand, aufgefangen. Auf diese Weise befand sich das ganze Eisen in salzsaurer Lösung im Kolben. Nun wurde, da die Titration nur in schwachsaurer Lösung geschehen darf, die Flüssigkeit mit Ammoniak bis zum Erscheinen des weißen Zinkniederschlages neutralisiert und dann bis zum Verschwinden desselben tropfenweise Salzsäure zugegeben. Diese Lösung wurde bei einer Temperatur von 50 bis 60° nach Zusatz von Jodkali und Stärkelösung mit einer genau bekannten Thiosulfatlösung titriert, und daraus nach Abzug der anfänglich hinzugetanen 2 mg Fe die Eisenmenge berechnet.

Jede Analyse wurde doppelt ausgeführt; bei etwa eingetretenen mäßigen Differenzen wurde das Mittel genommen, bei größeren Differenzen wurde die Analyse verworfen.

Zunächst seien die Bestandteile der einzelnen Tagesportionen aufgeführt.

I. Die erste Tagesportion aus dem Asyl für Obdachlose in Berlin bestand aus:

	ergibt getrocknet	enthält			
1 Schrippe	42·0 grm	0·031 grm	CaO	und 2·11 mg	Fe
530·0 grm Schwarzbrot . . .	400·15 „	0·295 „	„	„ 14·92 „	„
29·0 „ Butter		0·006 „	„	„ 0·63 „	„
Spinat	105·75 „	2·67 „	„	„ 18·3 „	„
Kartoffeln	84.84 „	0·060 „	„	„ 3·01 „	„
Schweinefleisch	58·5 „	0·007 „	„	„ 2·03 „	„
Kartoffelsuppe	102·375 „	1·886 „	„	„ 11·20 „	„
etwa 1 Liter Braunbier . .		0·062 „	„	„ 2·2 „	„
Kaffee mit Milch für morgens und nachmittags		0·226 „	„	„ 2·33 „	„

Gesamttrockensubstanz 793·615 grm
Gesamtkalkgehalt . . 5·244 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 56·73 mg Fe.

II. Die zweite Portion aus dem Asyl für Obdachlose setzte sich zusammen aus:

	ergibt getrocknet	enthält			
1 Schrippe	42·0 grm	0·024 grm	CaO	und 3·00 mg	Fe
534 grm Schwarzbrot . . .	357·78 „	0·198 „	„	„ 18·26 „	„
30 „ Butter		0·006 „	„	„ 1·00 „	„
Graupensuppe	138·74 „	0·25 „	„	„ 17·72 „	„
Rindfleisch + 1 P. Würstchen	54·0 „	0·007 „	„	„ 4·54 „	„
Abendsuppe	122·2 „	0·179 „	„	„ 7·85 „	„
etwa 1 Liter Braunbier . .		0·202 „	„	„ 4·67 „	„
Kaffee mit Milch für morgens und nachmittags . . .		0·109 „	„	„ 1·5 „	„



Gesamttrockensubstanz 714·72 ^{grm}
Gesamtkalkgehalt . . 0·974 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 58·54 ^{mg} Fe.

III. Die dritte Portion aus dem Asyl für Obdachlose setzte sich zusammen aus:

	ergibt getrocknet	enthält	
1 Schrippe	49·0 ^{grm}	0·029 ^{grm} CaO	und 6·1 ^{mg} Fe
507 ^{grm} Schwarzbrot . . .	349·83 „	0·246 „ „	„ 48·82 „ „
30 „ Butter		0·006 „ „	„ 1·9 „ „
Erbsen (undurchgeschlagen) mit Kartoffeln	292·8 „	0·51 „ „	„ 14·85 „ „
Speck	55·0 „	0·043 „ „	„ 1·5 „ „
Hafergrütze	72·163 „	0·304 „ „	„ 27·61 „ „
etwa 1 Liter Braunbier . .		0·157 „ „	„ 3·1 „ „
Kaffee mit Milch für morgens und nachmittags . . .		0·187 „ „	„ 2·0 „ „

Gesamttrockensubstanz 818·793 ^{grm}
Gesamtkalkgehalt . . 1·481 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 105·88 ^{mg} Fe.

IV. Erste Tagesportion eines 6jährigen Knaben:

1. Weißbrot mit Butter, Milchkakao, 1 Ei.
2. Brot mit Gänseschmalz.
3. Blumenkohlsuppe, Bratklops mit Kartoffeln, Blumenkohl, Sauce, 1 Apfel.
4. Milch, Honigbrot.
5. Milch, Brote mit Butter und Wurst.

Gesamtkalkgehalt . . 0·733 ^{grm} CaO
Gesamteisengehalt . . 21.70 ^{mg} Fe.

V. Zweite Tagesportion desselben Knaben:

	ergibt getrocknet	enthält	
1. Weißbrot mit Gänseschmalz, 1 Ei, Milchkakao . . .	87·0 ^{grm}	0·398 ^{grm} CaO	und 4·85 ^{mg} Fe
2. Brote mit Gänseschmalz .	52·0 „	0·012 „ „	„ 1·34 „ „
3. Hafermehlsuppe mit Korinthen, Schweinekotelette mit Bratkartoffeln . . .	72·0 „	0·061 „ „	„ 6·14 „ „
4. Milchkakao, 1 Brot mit Gänseschmalz	50·0 „	0·069 „ „	„ 2·07 „ „
5. Butterbrote mit Leberwurst, Griessuppe . . .	91·0 „	0·086 „ „	„ 3·24 „ „

Gesamttrockensubstanz 352·0 ^{grm}
Gesamtkalkgehalt . . 0·625 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 17·64 ^{mg} Fe.

VI. Dritte Tagesportion desselben Knaben:

	ergibt getrocknet	enthält
1. Schrippe mit Butter, Milchkakao	56·0 grm	0·138 grm CaO und 5·00 mg Fe
2. Brot mit Gänseschmalz, „ „ Blutwurst	45·0 „	0·014 „ „ „ 2·21 „ „
3. Bouillon mit Reis und Rindfleisch	51·0 „	0·074 „ „ „ 4·72 „ „
4. 1/2 Brot mit Honig, Milch	42·0 „	0·255 „ „ „ 0·56 „ „
5. Brot mit Blutwurst, Brot mit Salami, Milchkakao	103·0 „	0·161 „ „ „ 4.44 „ „

Gesamttrockensubstanz 297·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·643 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 16·93 mg Fe.

VII. Erste Tagesportion von Dr. P.:

1. Kaffee mit Milch, Weißbrot mit Butter und Zervelatwurst.
2. Weißbrot mit Butter und Zervelatwurst.
3. Fruchtsuppe, Grünkohl mit Kasseler und Bratkartoffeln.
4. Kaffee mit Milch, Kuchen.
5. Brote mit Butter und Wurst, Mandarine, Nüsse.
   Außerdem etwa 1 Liter Wasser.

Gesamttrockensubstanz 495·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·52 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 91·67 mg Fe.

VIII. Zweite Portion von Dr. P.:

1. Kaffee mit Milch, Weißbrot mit Butter.
2. Weißbrot mit Butter und Wurst.
3. Erbssuppe (aus Erbsmehl) mit geröstetem Weißbrot, Klops, Kartoffeln, Sellerie.
4. Kaffee mit Milch, Kuchen.
5. Brot mit Butter, Wurst, Käse, Äpfel, Nüsse.
   Außerdem etwa 1 Liter Wasser.

Gesamttrockensubstanz 485·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·79 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 56·0 mg Fe.

IX. Erste Tagesportion von Frau Dr. H.:

1. Kaffee mit Milch, Weißbrot mit Butter, Aufschnitt.
2. Milchkakao, Brot mit Butter und Wurst.
3. Mohrrüben, Schweinefleisch, Kartoffeln, 1 Apfel, 1 Glas Fachinger.
4. Kaffee mit Milch, Kuchen.
5. Brote mit Butter, Zervelatwurst, Käse, 1 Glas Tee.

Gesamttrockensubstanz 392·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 1·058 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 53·18 mg Fe.



X. Zweite Tagesportion von Frau Dr. H.:

1. Kaffee mit Milch, Weißbrot mit Butter, Wurst.
2. Milchkakao, 1 Ei, Butterbrot.
3. Grünkernsuppe, Kasseler, Kartoffeln, Sauerkraut, 1 Apfelsine, 1 Glas Fachinger.
4. Kaffee mit Milch, Buttersemmel.
5. Brote mit Butter und Aufschnitt, 1 Brathering, Käse, 1 Glas Tee.
Außerdem 1 Glas Wasser.

Gesamttrockensubstanz 404·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·862 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 41·58 mg Fe.

XI. Erste Tagesportion von Dr. Ku.:

1. Kaffee mit Sahne, Weißbrot mit Butter, Käse.
2. — — —
3. Grünkohl mit Schweinerippen, Kartoffel.
4. Kaffee mit Sahne.
5. $^1/_2$ Liter Milch, Nüsse.

Gesamttrockensubstanz 338·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 2·534 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 32·65 mg Fe.

XII. Zweite Tagesportion von Dr. Ku.:

1. Kaffee mit Sahne, Weißbrot mit Butter, Käse.
2. — — —
3. Saure Heringe, Bratkartoffeln, 1 Glas Milch mit Sahne.
4. Kaffee mit Sahne.
5. $^1/_2$ Liter Milch, Nüsse.

Gesamttrockensubstanz 305·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 2·563 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 24·22 mg Fe.

XIII. Erste Tagesportion des Institutsdieners F.:

1. Malzkaffee mit Milch, Zucker, Weißbrot, Butter.
2. Brote mit Butter, Aufschnitt, Tee mit Zucker.
3. Blumenkohlsuppe, Leber, Kartoffeln, Gurke, Wasser.
4. — — —
5. Brote mit Butter, Aufschnitt, Tee mit Zucker, Apfelsine.

Gesamttrockensubstanz 450·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·927 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 27·9 mg Fe.

XIV. Zweite Tagesportion des Institutsdieners F.:

1. Malzkaffee mit Milch, Zucker, Weißbrot mit Butter.
2. Brote mit Butter, Aufschnitt, Tee mit Zucker.
3. Mohrrüben mit Buletten, Kartoffeln, Preißelbeeren.
4. — — —
5. Brote mit Butter, Aufschnitt, Tee mit Zucker, Apfel.



Gesamttrockensubstanz 555·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·915 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 76·59 mg Fe.

XV. Erste Tagesportion der Institutsdienerin Sch.:

1. Kaffee mit Milch, Zucker, 1 Tasse Sahne.
2. Brote mit Butter und Aufschnitt, Kaffee mit Milch und Sahne.
3. Rindfleisch mit Sauce, Salzkartoffeln, 1 Flasche Bier.
4. Kaffee mit Milch, Zucker, 1 Butterbrötchen.
5. Brote mit Butter und Aufschnitt, Kaffee mit Milch und Zucker.

Gesamttrockensubstanz 425·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·840 „ CaO.
Gesamteisengehalt . . 8·75 mg Fe.

XVI. Zweite Tagesportion der Institutsdienerin Sch.:

1. Kaffee mit Milch und Zucker, 1 Tasse Sahne.
2. Butterbrote mit Aufschnitt.
3. Beefsteak mit Salzkartoffeln, 1 Flasche Bier.
4. Kaffee mit Milch und Zucker, 1 Butterbrötchen.
5. Brote mit Butter und Aufschnitt, Kaffee mit Milch und Zucker.

Gesamttrockensubstanz 362·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 0·686 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 23·75 mg Fe.

XVII. Erste Tagesportion von Dr. Ki.:

1. Tee, Weißbrot mit Butter.
2. 1 Flasche Milch, Brot.
3. Bouillon, Rinderbraten, Sauce, Kartoffeln, Kompott.
4. — — —
5. Brote mit Butter, Wurst.

Gesamttrockensubstanz 612·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 1·545 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 31·67 mg Fe.

XVIII. Zweite Tagesportion von Dr. Ki.:

1. Tee, Weißbrot mit Butter.
2. 1 Flasche Milch, Brot.
3. Kalbsbraten, Kartoffeln, Sauce, Kompott.
4. — — —
5. Brote mit Butter, Brathering, Wurst.

Gesamttrockensubstanz 562·0 grm
Gesamtkalkgehalt . . 1·38 „ CaO
Gesamteisengehalt . . 39·48 mg Fe.



Die Resultate, in Tabellenform zusammengestellt, ergeben:

Tabelle V.

Lfde. Nr.	Charakteristik	CaO grm	Auf Ca berechnet grm	Fe mg	Auf Fe_2O_3 berechnet mg	Trocken-substanz grm
1.	Asyl für Obdachlose	5·244	3·744	56·73	162·239	793·615
2.	„ „ „	0·975	0·697	58·54	167·424	714·72
3.	„ „ „	1·481	1·058	105·88	302·817	818·793
4.	6 jähriger Knabe . .	0·733	0·529	21·7	52·062	—
5.	6 „ „ . .	0·625	0·427	17·64	50·450	352·0
6.	6 „ „ . .	0·643	0·460	16·93	48·420	297·0
7.	Dr. P..	0·52	0·372	91·67	262·188	495·0
8.	„ „	0·79	0·58	56·00	160·154	485·0
9.	Frau Dr. H. . . .	1·058	0·756	53·18	152·095	392·0
10.	„ „ „ . . .	0·862	0·616	41·58	118·919	404·0
11.	Dr. Ku.	2·534	1·811	32·65	93·379	338·0
12.	„ „	2·563	1·832	24·22	68·461	305·0
13.	Diener F.	0·927	0·662	27·9	79·794	450·0
14.	„ „	0·915	0·654	76·59	219·047	555·0
15.	Dienerin Frau Sch. .	0·840	0·6	8·75	15·039	425·0
16.	„ „ „ .	0·686	0·49	23·75	67·325	362·0
17.	Dr. Ki.	1·545	1·104	31·67	90·576	612·0
18.	„ „	1·38	0·986	39·48	112·913	562·0

Die Durchschnittswerte an Kalk und Eisen ergibt folgende Tabelle:

Tabelle VI.

Charakteristik	CaO grm	Auf Ca berechnet grm	Fe mg	Auf Fe_2O_3 berechnet mg	Trocken-substanz grm
Erwachsene Männer. . .	1·716	1·227	54·666	156·345	557·193
„ Frauen . . .	0·862	0·615	31·816	90·994	395·75
6jähriger Knabe	0·667	0·427	18·76	53·654	324·5

Das Berliner Leitungswasser, mit dem die Speisen bereitet wurden, hat eine Gesamthärte von etwa 10 deutschen Härtegraden oder 100 mg CaO in 1 Liter; also bei 1 Liter Zufuhr nur 6 bis 12 Prozent der Gesamtzufuhr an Kalk.

Sind nun die in den Speisen enthaltenen und durch die Analysen ermittelten Kalk- und Eisenmengen hinreichend, um das Bedürfnis der Versuchspersonen an diesen Mineralstoffen zu decken? Da sie sämtlich bei freigewählter seit Jahren gewohnter Kost und völlig gesunden Per-



sonen gefunden wurden, so muß in der Tat angenommen werden, daß sie in allen Fällen ausreichten, um dem Ersatzbedürfnis des Körpers zu genügen. In manchen Fällen wird sogar eine ziemlich beträchtliche Luxuszufuhr stattgefunden haben.

Wenn man die oben (S. 556 u. 557) angeführten, aus Stoffwechselversuchen entnommenen Bedarfszahlen für Kalk zugrunde legt, so hat ebenfalls die untersuchte Nahrung ausreichend Kalk enthalten. — Auch der 6jährige Knabe macht keine Ausnahme. Er nahm durchschnittlich täglich 0·667 grm CaO mit der Nahrung zu sich. Wenn die Angaben Arons und Sebauers[1] richtig sind, daß der wachsende Organismus 1·2 Prozent der Körpergewichtszunahme an Kalk bedarf, und der Knabe in seinem 6. Jahr 4 kg — es handelt sich um einen sehr kräftigen Jungen — an Körpergewicht zunahm, so lagerte er etwa 48·0 grm CaO in seinem Körper ab. Er mußte deshalb zu seiner normalen Entwicklung täglich mindestens 0·13 grm CaO zurückbehalten können, was bei der dargereichten Nahrung offenbar ohne weiteres möglich war.

Der sehr geringe tägliche Eisenbedarf des Menschen wird bei unseren Versuchspersonen gleichfalls mit Leichtigkeit aus der Nahrung gedeckt.

Die wiederholt ausgesprochene Befürchtung, als ob in breiteren Schichten unserer Bevölkerung ein Mangel der Nahrung an Salzen und speziell an Kalk vorhanden sei, findet daher in meinen Erhebungen keine Stütze. Vorausgesetzt werden muß nur, daß die Kost nicht abnorm einseitig ist, sondern in üblicher Weise vorwiegend Vegetabilien und unter diesen Gemüse wie Kohl, Spinat usw. und Früchte enthält. Ist dies der Fall, so erscheint es für die Kalkzufuhr irrelevant, ob das zur Zubereitung der Speisen und zum Trinken benutzte Wasser hart oder weich ist. Und sollte aus irgend welchen Gründen stärkere Kalkzufuhr gewünscht werden, so ist das noch ausgiebiger und leichter als durch Gemüse und Früchte zu bewerkstelligen durch Zugabe von Milch, die ja auch die abnorm hohen von Tigerstedt gefundenen Zahlen veranlaßt hat. Ein halber Liter Milch mit seinem Gehalt von 0·75 grm CaO bewirkt schon bei jeder beliebigen Kost eine genügende oder überschüssige Kalkzufuhr.

---

[1] Aron u. Sebauer, Untersuchungen über die Bedeutung der Kalksalze für den wachsenden Organismus. *Biochem. Zeitschrift.* Bd. VIII. S. 1.

[Aus dem chemisch-biologischen Laboratorium der IV. Abteilung des St. Rochus-Spitales der Haupt- und Residenzstadt Budapest.]
(Oberarzt: Professor Stephan von Tóth.)

Untersuchungen über die Beeinflussung der Hämolyse von Mikroorganismen.

Von

Eugen Rosenthal.

Die Diskussion, welche über den Zusammenhang der Hämolyse und Virulenz besteht, veranlaßte mich, dieser Frage näherzutreten und einen Versuch zu machen die diesbezüglichen Verhältnisse zu klären und einer Lösung näherzubringen. — Auf einen solchen Zusammenhang zwischen der Virulenz und Hämolyse machten zuerst Neisser und Wechsberg[1] (bei Staphylokokken) aufmerksam, und etwa 2 Jahre später kam die bekannte Lehre Schottmüllers[2], wonach den auf der Blutagarplatte hämolysierenden und Blutfarbstoff nicht lösenden Stämmen von Streptokokken ein schwerer oder leichter klinischer Verlauf der Krankheit entspricht. Seither wurden namentlich die Angaben Schottmüllers durch zahlreiche Autoren nachgeprüft: dieselben erfuhren zunächst volle Bestätigung, wurden erweitert, der Nachweis von hämolytischen Streptokokken ist sogar zur Grundlage theurapeutischer Eingriffe geworden (Winter).[3] Später stellte sich indessen heraus, daß selbst der Nachweis von hämolytischen Keimen, speziell von Streptokokken, im Blut noch keine absolut schlechte Prognose bedeutet, wie dies aus den in unserer Abteilung beobachteten Fällen und zahlreichen Fällen anderer Autoren hervorgeht; und daß für den klinisch günstigen oder ungünstigen Verlauf die Gegen-

---

[1] Neisser u. Wechsberg, *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. LXXXVI.
[2] Schottmüller, *Münchener med. Wochenschrift.* 1903. Nr. 20—21.
[3] Winter, *Centralblatt f. Gynäkologie.* 1911. Nr. 569.

wart von hämolytischen oder anhämolytischen Streptokokken ganz ohne Bedeutung ist, beweisen in Übereinstimmung mit den Arbeiten zahlreicher Autoren auch die Untersuchungen, welche ich in Gemeinschaft mit E. v. Mihálkovics[1] ausführte. Wenn es somit feststehend war, daß die Hämolyse keine erhöhte Virulenz bedeutet, ergibt sich von selbst die Frage nach den Bedingungen, welche diese Funktion erzeugen.

Um den diesbezüglichen Untersuchungen eine prinzipiell richtige Grundlage zu schaffen, sahen wir davon ab, die von klinisch schweren oder leichten Fällen herrührenden Mikroorganismen einfach als virulente oder avirulente bei unseren Versuchen zu betrachten: daß eine derartige Überlegung nicht zulässig ist, hob ich vor kurzem an anderer Stelle[2] hervor. Aus diesem Grunde wurde das hämolytische Verhalten der untersuchten pathogenen Keime in einem Zustand der künstlich erhöhten und künstlich herabgesetzten Virulenz, namentlich bei Heranziehen verschiedener Nährböden, studiert. Die Hämolyse desselben Stammes wurde in virulentem und avirulentem Zustande einerseits auf der Schottmüllerschen Blutagarplatte geprüft, ferner wurden die Filtrate der Bouillonkulturen in Bezug auf vorhandene Bakterienhämolysine in vitro geprüft. — In den Versuchen wurde die Hämolyse verschiedenen Erythrozytenarten gegenüber geprüft, es kamen Menschen-, Schaf-, Kaninchen- und Mäuseerythrozyten zur Anwendung.

Der erste von uns angeführte Versuch bezieht sich auf einen Streptokokkenstamm, welcher vom Blute einer an Sepsis verstorbenen Frau herrührte; derselbe wies auf der Menschenblutagarplatte, wenn auch nicht starke, aber ausgesprochene Hämolyse auf. Dieser Stamm wurde durch 3 Monate auf künstlichen Nährböden gezüchtet, und zwar auf Serumagar, Traubenzuckeragar und Bouillon.

Nach Verlauf der obenerwähnten Zeit wurden von den auf verschiedenen Nährböden gezüchteten Mikroorganismen Blutagarplatten mit verschiedenen Erythrozytenarten gegossen: das Resultat dieses Versuchs ist in Tabelle I zusammengefaßt und zeigt, daß im Laufe der Züchtung auf künstlichem Nährboden der untersuchte Stamm seine hämolytische Eigenschaft verlor, gleich ob er auf Serumagar, Traubenzuckeragar oder Bouillon gezüchtet wurde.[3]

[1] E. v. Mihálkovics u. E. Rosenthal, *Monatschrift f. Geburtshilfe u. Gynäkologie.* 1913.

[2] E. Rosenthal, *Archiv f. Hygiene.* 1913.

[3] Während die Hämolyse bereits nach 14 Tagen kaum nachweisbar war, erreichte in diesem Zeitpunkt die Virulenz für Mäuse nicht das später erzielte Minimum; 1 ccm der Verdünnung 1:100 tötete jetzt in 4 Tagen Mäuse, während nach der Isolierung dieselbe Menge in 2 Tagen den Tod einer Maus herbeiführte.



Tabelle I.

Prüfung der Hämolyse auf 10 prozentiger	Der verimpfte Keim wurde gezüchtet auf:		
	Serumagar	Traubenzucker	Bouillon
Menschenblut-Agarplatte . . .	—[1]	—	—
Hammelblut- „ . . .	—	—	—
Kaninchenblut- „ . . .	—	—	—
Mäuseblut- „ . . .	—	—	—

Derselbe Stamm wurde nunmehr auf Mäuse verimpft; im ersten Versuch tötete 0·01 ccm einer Aufschwemmung, welche bei Verwendung des Bakteriometers eine 5 mm hohe Bakteriensäule lieferte[2], eine Maus in 7 Tagen; durch wiederholte Impfungen an Mäusen gelang es zum Schluß die Virulenz des Stammes derart zu erhöhen, daß zum Schluß die Verdünnung 1:500 in 24 bis 48 Stunden eine Maus tötete. Der Versuch mit den Blutagarplatten wurde mit dem nunmehr virulenten Mikroorganismus wiederholt, führte indessen zu einem anderen Resultat (s. Tabelle II).

Tabelle II.

Prüfung der Hämolyse auf 10 prozentiger	Grad der Hämolyse
Menschenblut-Agarplatte . . .	+—
Hammelblut- „	—
Kaninchenblut- „	+—
Mäuseblut- „	+

Der verimpfte Keim wurde durch wiederholte Passage an Mäusen virulent gemacht.

Der durch Passage an Mäusen virulent gemachte Streptococcus wies somit auf der Mäuseblutagarplatte eine starke Hämolyse auf, während die Lösung des Blutfarbstoffes an der Hammelblutagarplatte garnicht, an der Menschen- und Kaninchenblutagarplatte nur schwach erfolgte.

Es wurde nunmehr der Versuch gemacht, avirulente Kulturen wiederholt auf verschiedene Blutagarplatten zu verimpfen: viermal nacheinander wurden die Mikroorganismen auf denselben Blutagarplatten derselben Art verimpft und verhielten sich hierbei bezüglich der Hämolyse in einer Weise, welche in Tabelle III veranschaulicht ist.

---

[1] Hier, wie in den folgenden Tabellen soll:
— = keine Hämolyse,
\+ = Hämolyse,
+— = schwache Hämolyse
bedeuten.

[2] Über die Verwendung desselben siehe bei E. Rosenthal, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1913.



Tabelle III.

Prüfung der Hämolyse auf 10 prozentiger	Hämolyse auf der			
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte
Menschenblut-Agarplatte	—	+—	+—	+
Hammelblut- „	—	—	—	+—
Kaninchenblut- „	—	—	+	+
Mäuseblut- „	—	—	+—	+

Die Virulenz des hämolysierenden Stammes, welcher auf der 4. Platte wuchs, war für Mäuse nicht höher als welcher von der 1. Platte herrührte, und schwankte bei Verimpfung derselben Mengen wie im obigen Versuch 6 bis 8 Tage. Daß anhämolytische Keime durch einfache Überimpfung auf Blutagarplatten Hämolyse aufweisen können, ist eine Tatsache, welche ich anläßlich der erwähnten Versuche mit E. v. Mihálkovics wiederholt beobachten konnte. Diese in Tabelle III zusammengestellten Versuchsergebnisse zeigen somit, daß die hämolysierenden Kulturen der 4. Platte keine höhere Virulenz aufweisen, als diejenigen der anhämolytischen ersten Platte. Es wurde ferner von den auf verschiedenen Blutarten gezüchteten Mikroorganismen auf die mit den drei anderen Blutarten hergestellten Agarplatten verimpft (s. Tabelle IV); hierbei zeigte sich, daß die auf einem bestimmten Nährboden gezüchteten Streptokokken die Blutkörperchen derselben Art am stärksten lösen, während sie die übrigen, wenn überhaupt, nur weniger stark angreifen. Werden aber in demselben Sinne die Keime weiter verimpft, so läßt sich bei der zweiten und dritten Überimpfung mehr gar kein oder nur ein ganz unbedeutender Unterschied erkennen. Eine elektive Hämolyse gegenüber der Erythrozytenart, welche schon früher gelöst wurde, ist also am ersten Tag mit ziemlicher Deutlichkeit erkennbar; später erscheinen diese Unterschiede allmählich undeutlich und sind nicht mehr zu erkennen.

Tabelle IV.

Überimpfung auf 10 prozentige	Überimpfung von der			
	Menschenblutplatte	Hammelblutplatte	Kaninchenblutplatte	Mäuseblutplatte
Menschenblut-Agarplatte	+	—	+—	—
Hammelblut- „	—	+	+	+
Kaninchenblut- „	+	—	+	+
Mäuseblut- „	—+	—	+	+

Ein weiterer Streptokokkenstamm, welcher von der Tonsilla eines gesunden Mannes stammte, wurde in ähnlicher Weise untersucht. Hier war von Anfang an keine Hämolyse verhanden; durch Steigerung der Virulenz durch Mäusepassage konnte dieselbe soweit erhöht werden, daß 1 ^{ccm} der Verdünnung 1:200 eine Maus innerhalb 48 Stunden tötete.



Abweichend vom weiter oben besprochenen Streptokokkenstamm war hier die Hämolyse für Mäuseblutkörperchen gar nicht stärker, als dieselbe auf der Kaninchenagarplatte; dagegen war eine Hämolyse auf den beiden anderen Platten kaum bzw. garnicht vorhanden. Auch in diesem Fall war es durch einfache Überimpfung des avirulenten Keimes auf verschiedene Blutplatten möglich, hämolysierende Keime zu erhalten (s. Tabelle V).

Tabelle V.

Prüfung der Hämolyse auf 10prozentiger	Grad der Hämolyse
Menschenblut-Agarplatte . . .	— +
Hammelblut- „ . . .	—
Kaninchenblut- „ . . .	+
Mäuseblut- „ . . .	+

Wir hatten ferner Gelegenheit, einen Stamm von Staphylococcus aureus zu beobachten, welcher von einem Fall von Furunkulosis herrührte; der Stamm wuchs auf den gebräuchlichen Nährböden üppig und wies namentlich an der Menschenblutagarplatte deutlich Hämolyse auf. 1 ccm der Verdünnung 1:100 (jener Aufschwemmung, welche eine 5 mm hohe Bakteriensäule liefert) wurde Kaninchen intravenös verabreicht. Das erste Kaninchen ging in 9 Tagen ein, das letzte in 2 Tagen.

Die Prüfung des hämolytischen Verhaltens wies jetzt insofern eine Änderung auf, daß diese somit virulent gemachte Kultur außer der erwähnten Hämolyse der Menschenerythrozyten auch auf der Kaninchen- und Mäuseblutagarplatte eine Hämolyse zeigte (s. Tabelle VI).

Tabelle VI.

Prüfung der Hämolyse auf 10prozentiger	Grad der Hämolyse
Menschenblut-Agarplatte . . .	+
Hammelblut- „ . . .	—
Kaninchenblut- „ . . .	+
Mäuseblut- „ . . .	+

Überdies wurde in einem Versuch untersucht, wie sich der Staphylolysingehalt des Stammes den Veränderungen der Virulenz gegenüber verhält. Dieser Versuch wurde derart eingerichtet, daß ich 1 ccm der Verdünnung 1:100 der virulenten und avirulenten Kultur auf genau 200 ccm Nährbouillon verimpfte; nach Durchschütteln der Kultur entnahm ich täglich etwa 8 ccm derselben. Diese Menge wurde durch einen Berkefeldfilter filtriert und zum Staphylolysinversuch verwendet. Hierbei ergab



sich entgegen den Angaben von Neisser und Wechsberg kein besonderer Unterschied in der Menge bzw. Stärke des Lysins den zum Versuch verwendeten Kaninchenblutkörperchen gegenüber, wie dies auch in Tabelle VII zu sehen ist. Der von uns verwendete Stamm erzeugte somit in virulentem Zustand kaum mehr Hämolysin als in einem ziemlich avirulentem Zustand.

Tabelle VII.

Filtrat der	Versuchstag									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
avirulenten Kultur . .	—	—	—	0·75	0·5	0·5	0·5	0·25	0·1	0·1
virulenten „ . .	—	—	0·75[1]	0·75	0·5	0·25	0·25	0·25	0·1	0·1

In Bezug auf die Produktion des Staphylolysins steht uns noch eine weitere Beobachtung zur Verfügung: ein Staphylokokkenstamm „F" wurde vom Blute einer an Sepsis erkrankten Frau herausgezüchtet; derselbe hämolysierte auf der Menschenblutagarplatte stark, lieferte aber nur ein äußerst schwach wirksames Lysin für Kaninchenerythrozyten. Weitere Versuche in dieser Richtung führte ich nicht aus, da in der Literatur ein Bericht über ähnliche Beobachtungen anderer Autoren vorliegt; so fand Lohr[2] bei einem hochvirulenten Stamm (Sepsis) keine Hämolyse.

Auch in Bezug auf das Verhalten des zuerst von H. Kayser[3] näher untersuchten Colilysins wurden Versuche ausgeführt. Ein Stamm des Bact. coli wurde aus den Faeces eines gesunden Individiums isoliert, bot alle die für diesen Mikroorganismus charakteristischen Eigenschaften; der Stamm wurde einerseits 8 Wochen auf künstlichem Nährboden gezüchtet, andererseits behufs Erhöhung der Virulenz auf Meerschweinchen verimpft; von der avirulenten Kultur tötete 1 ccm der Verdünnung 1:100 (intraperitoneal) in 5 Tagen ein Meerschweinchen von etwa 200 grm Gewicht, am Schlusse erlagen dagegen Meerschweinchen (von demselben Gewicht) 1 ccm der Verdünnung 1:400 in 2 Tagen. Außerdem machten wir den Versuch, im Sinne der Untersuchungen F. Gáls[4] eine Virulenzsteigerung in vitro ohne Vermittlung des Tierkörpers zu erzielen; dieser Versuch führte zu einem positiven Resultat, indem jener Stamm, welcher in avirulentem Zustand ein Meerschweinchen von 200 grm in einer Verdünnung von 1:100 in 5 Tagen tötete, durch die Einwirkung der 0·1 promilligen Trypsinlösung eine Virulenz erhielt, wodurch ein Meerschweinchen von

[1] Die in dieser und in der folgenden Tabelle angegebenen Zahlen bedeuten die komplett lösende Dosis des Filtrats in Kubikzentimetern.

[2] Adam Lohr, *Münchener med. Wochenschrift.* 1905.

[3] H. Kayser, *Diese Zeitschrift.* 1903. Bd. XLII.

[4] F. Gál, *Centralblatt f. Bakteriologie. — Zeitschrift f. Immunitätsforschung.* Bd. XIV.



der gleichen Menge (1 ccm) der obigen Verdünnung in 2 Tagen getötet wurde. — Nunmehr wurde das Verhalten dieser drei Stämme beim Colilysinversuch (Hundeerythrozyten gegenüber) untersucht. Wie aus der nebenstehenden Tabelle VIII leicht zu ersehen ist, ergab sich durchaus kein Unterschied in dem Sinne, daß virulente Kulturen stärker hämolysierend wirken. — Versuchsweise brachten wir die Filtrate vom 4. Tag mit Meerschweinchenerythrozyten zusammen. Hierbei zeigte sich, daß bei den durch Tierpassage virulent gemachten Keimen sich ein wenn auch nicht starker, eben bemerkbarer Unterschied zeigte gegenüber den avirulenten und den durch Trypsinwirkung virulent gewordenen Stämmen. Eine vollständige Lösung trat zwar auch bei dem durch Tierpassage virulent gemachten Stamm bzw. dessen Filtrat nicht ein, aber die Hemmung war keineswegs eine absolute und entfernt nicht so stark, als im entsprechenden Versuch mit den Hundeerythrozyten.

Tabelle VIII.

Filtrat der	Versuchstag									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
avirulenten Kultur	—	—	—	1·0	1·0	1·0	0·5	0·25	0·25	0·1
virulenten Kultur (Tierpassage)	—	—	—	—	1·0	1·5	0·25	0·25	0·1	0·05
virulenten Kultur (Trypsin)	—	—	—	—	1·0	0·75	0·5	0·25	0·25	0·1

Ein weiterer Versuch, welcher mit einem zweiten Colistamm (herrührend von einer tödlichen Coli-Peritonitis) ausgeführt wurde, fiel in demselben Sinn aus, wie im soeben besprochenen Fall. Aus diesem Grunde glauben wir davon absehen zu dürfen, auch die diesbezüglichen Versuchsergebnisse eingehend zu behandeln.

Die bei Streptokokken, Staphylokokken und beim B. coli gemachten Beobachtungen zeigen zunächst, daß zwischen der Virulenz und der Hämolyse keine näheren Beziehungen bestehen; es könnte wohl jemand sagen, daß nach einer Tierpassage, also nach einem Eingriff, der eine Virulenzsteigerung im allgemeinen zur Folge hat, auch meist eine Hämolyse vorhanden ist; dies ist wohl richtig, jeder virulente Stamm kann hämolysierend wirken, muß es aber nicht sein. — Die hämolytische Funktion bezeigt sich am stärksten gegenüber den Erythrozyten jener Tierart, welche bei der Tierpassage verwendet wurde. Genau so intensive Hämolyse kann indessen auch bei ganz avirulenten (auch im Mäuseversuch sich als solche erweisenden) Stämmen durch



die wiederholte Übertragung auf Blutagarplatten erzielt werden, als Beweis der Tatsache, daß virulente Keime nicht hämolysieren, und hämolysierende nicht virulent sein müssen.

Überdies geht bei wiederholten Übertragungen virulenter und hämolytischer Keime auf künstlichen Nährböden die Hämolyse und Virulenz keineswegs gleichzeitg verloren. Wie bereits erwähnt, konnte am 14. Tag der Abschwächung des Streptokokkenstammes „K" bereits keine Hämolyse, aber im Vergleich zur maximalen und minimalen Virulenz, welche experimentell erzielt werden konnte, noch eine nicht unwesentliche Virulenz beobachtet werden.

Demnach können wir der Ansicht Hamms[1], welche er in seiner sonst vorzüglichen neuesten Arbeit (S. 49) vertritt, wonach zwischen Hämolyse und Virulenz der Streptokokken ein gewisser Parallelismus besteht, nicht beipflichten. Wer eine größere Reihe bakteriologischer Blutuntersuchungen auszuführen Gelegenheit hatte, dürfte es kaum wagen, aus einem Blutbefund mit anhämolytischen Streptokokken eine günstige und bei Vorhandensein hämolytischer Keime eine schlechte Prognose zu stellen; wer dies aber tut, dem werden Täuschungen und dem klinischen Bild in mannigfaltiger Weise widersprechende Annahmen nicht erspart bleiben. Wohl spricht Hamm nur von einem „gewissen Parallelismus", aber wir haben den Eindruck, daß es sich hierbei nur um das zufällige Treffen von Hämolyse und Virulenz handelt in dem Sinne, wie wir es weiter oben hervorhoben. — Auch in Bezug auf Hämolysine, welche in die Nährbouillon übergehen, müssen wir einen Standpunkt einnehmen, der mit den Anschauungen von Neisser und Wechsberg nicht vereinbar ist; entgegen den Angaben dieser Autoren fanden wir keinen Zusammenhang der Staphylolysinbildung mit der Virulenz der Keime. Mit unseren übereinstimmende Resultate liegen auch von anderer Seite vor (Lohr). Auch die mit dem B. coli ausgeführten Versuche sprechen in diesem Sinne; bei diesen gelang es sogar, die Virulenz ohne Tierpassage durch Einwirkung einer Trypsinlösung zu steigern (F. Gál). — Obzwar die Virulenzsteigerung des auf diese Weise behandelten Stammes im Tierversuch deutlich nachweisbar und zweifellos vorhanden war, ergab sich im Hämolysingehalt des Stammes kein Unterschied gegenüber den avirulenten Keimen.

Wenn somit aus diesen Versuchen hervorgeht, daß Virulenz und Hämolyse überhaupt nicht parallel gehen müssen, ergibt sich aus ihnen noch eine zweite, nicht minder wichtige Tatsache: es scheint nämlich, als wäre diese Funktion der Mikroorganismen mit ihrer Ernährungstätigkeit in

[1] Hamm, *Puerperale Wundinfektion.* Berlin 1912.



Verbindung, ein Umstand, welchen wir bereits in der mit E. v. Mihálkovics ausgeführten Arbeit hervorzuheben nicht unterließen. Wird ein anhämolytischer Mikroorganismus auf einem bluthaltigen Nährboden gezüchtet,[1] so paßt sich der Keim den ihm zur Verfügung stehenden Mikroorganismen und Makroorganismen im weitesten Sinne an.

Das Auftreten der Hämolyse oder das Fehlen dieser Eigenschaft ist demnach davon abhängig, ob der Mikroorganismus im Stande ist, das betreffende Nährsubstrat, im vorliegenden Fall Blut, für sich zu verwenden; steht ein anderes, etwa leichter zugängliches Nährmaterial in genügender Menge zur Verfügung, so dürfte es dementsprechend seltener zur Entfaltung einer hämolytischen Funktion kommen. Im Auftreten der Hämolyse bei einem Mikroorganismus haben wir somit ganz allgemein eine Anpassungserscheinung an den bluthaltigen Nährboden zu erblicken, welche bei apathogenen Keimen ebenso auftritt wie bei hochvirulenten Streptokokken. Letztere werden dementsprechend besonders dann hämolytisch wirken, wenn sie zuvor vorwiegend irgend einen bluthaltigen Nährboden zur Verfügung hatten, eine Bedingung, welche namentlich im puerperalen oder postmenstruellen Genitalapparat oft genug erfüllt sein kann, um die Gegenwart von hämolytischen Keimen zu erklären.

Zusammenfassung.

Die Virulenz von Mikroorganismen (namentlich der untersuchten Streptokokken, Staphylokokken und der des B. coli) ist von der hämolytischen Wirkung in hohem Grade unabhängig: anhämolytische Keime können virulent und avirulente hämolytisch sein. —

Die Bedingung, von welcher das Auftreten einer Hämolyse abhängt, ist eine mehr oder weniger intensive Anpassung an einen bluthaltigen Nährboden: die Hämolyse von Mikroorganismen stellt somit eine Funktion ihrer Ernährungstätigkeit vor; dies ist im Endeffekt eine Anpassungserscheinung, welche ganz allgemein bei Mikro- und Makroorganismen gleich verbreitet ist und welche geeignet ist, diese Tätigkeit verschiedener Keime im Sinne unserer obigen Ausführungen leicht und ungezwungen zu erklären.



Ein Fall von Sprue durch Erdbeeren gebessert.

Von

Dr. **Carl St. Leede,**
Seattle, Wash. U. S. A.

Leider ist es mir nicht möglich, eine ausführliche Literaturübersicht über diese Krankheitsform zu geben, da mir die deutsche Literatur nur in sehr beschränktem Grade zur Verfügung steht. Die deutsche Klinik behandelt, wie mir scheint, diese Krankheit überhaupt nicht, ebensowenig Strümpell. In den in meinem Besitz befindlichen Jahrgängen der „Münch. med. Wochenschrift" finde ich zwei Referate über Arbeiten, welche die Sprue behandeln, so von Rostocke S. 366, 1909 und Zabel S. 604, 1912, außerdem haben 1908 Bohne und 1905 H. Richartz in dieser Zeitschrift die Sprue besprochen.

In Europa selber ist diese Krankheit, die unter verschiedenster Bezeichnung beschrieben worden ist (so z. B. Sprue, Aphthae tropicae seu orientales, Spruw, Psilosis, indische Spruw, Cachexia aphthosa, chronische Tropendysenterie), selten gesehen und dann nur bei Leuten, die längere Zeit in den Tropen gewesen sind.

Die eigentliche Brutstätte der Sprue sind die tropischen Länder, vorwiegend Java, Cochinchina, Indien, Manila, auch Westindien und Zentral-Amerika. So erklärt es sich auch, daß die Krankheit besonders von Ärzten derjenigen Nationen studiert worden ist, die in den Tropen Kolonien besitzen oder besessen haben, so besonders von englischen und holländischen Ärzten.

Die beste Beschreibung dieser Erkrankungsform fand ich bei Manson.[1] Diese Arbeit lege ich meiner Schilderung der Sprue zugrunde und werde dann versuchen, ein möglichst klares Bild des von mir beobachteten Falles zu geben.

[1] Manson, *System of Medicine.* Allbutt & Rolleston. Vol. II. Part. II. p. 544. Maemillon Company.



Die Sprue ist eine Krankheit der Schleimhäute, vornehmlich des Verdauungstraktes, aber auch der Vagina. Sie ist ausgezeichnet durch eine sehr hartnäckige, chronische, zu Remissionen ungemein geneigte Entzündung des ganzen oder eines Teiles der Mukosa des Verdauungskanales und befällt vorwiegend Europäer, die in den Tropen wohnen oder vorübergehend gewohnt haben. Charakteristisch ist das regellose Abwechseln zwischen Zeiten relativer Ruhe und stürmischer Exacerbation.

Die Schleimhaut des Mundes und der Zunge ist eigentümlich entzündet, schmerzhaft. Als erstes Symptom treten bei der Sprue meistens unter lebhaften Schmerzen im Munde, besonders am Rande, an der Spitze und oft unter der Zunge, aber auch an der übrigen Schleimhaut, kleine herpesähnliche Bläschen auf, welche in oberflächliche Ulzerationen zerfallen und in regellosen Schüben abheilen und wieder auftreten. Oder es entstehen größere, entzündete, nackte Flecken, meistens mit eiterigem Schleim bedeckt, vorwiegend der Zahnreihe gegenüber. Im weiteren Verlauf treten Risse in der Zunge auf; die Papillen atrophieren, die Zunge wird atrophisch, blaß, hart, glatt und glänzend, wie gefirnißt.

Ganz ähnliche Verhältnisse müssen sich in der Mukosa des Ösophagus und des Magendarmkanals wie auch in der Vagina abspielen; das beweisen die Befunde an der Leiche, wie sie Manson beschreibt. Die Mukosa des Verdauungsschlauches ist oft in ganzer Ausdehnung oder mehr fleckweise erkrankt, von einer dicken Lage zähen, schmutzigen Schleimes überzogen. Die Darmschleimhaut läßt 1. hyperämische, 2. arrodierte, 3. ulzerierte, 4. pigmentierte, 5. nackte, dünne, narbige Stellen erkennen, an denen die Villi und Drüsen fehlen, und endlich solche, an denen eine totale Vernarbung eingetreten ist, die von kleinsten, runden, stecknadelkopfgroßen Tumoren umgeben sind.

Die übrigen Organe zeigen die Veränderungen, wie sie durch schwerste Inanition bedingt sind.

Bezeichnend für die Beteiligung des Verdauungstraktus sind die blassen, oft graubraun schillernden, sehr voluminösen Stühle von ekelhaftem Geruch, die in Gärung begriffen, von zahllosen kleinsten Bläschen durchsetzt sind. Teils sind die Entleerungen dünnflüssig, meistens breiig; sie erfolgen meist zahlreich innerhalb einiger Stunden (bei unserem Fall bis zu 17) nach sehr heftigen Leibschmerzen mit starker Flatulenz, fast durchweg in den frühen Morgenstunden.

Daß bei diesen Befunden die Ausnutzung der Nahrung sehr darniederliegt, ist selbstverständlich, und so findet man in den Fäzes makroskopisch Kaseinflocken, mikroskopisch unveränderte Muskelfasern, unverdaute Stärkezellen und, was besonders charakteristisch ist, unverändertes Fett neben



Fettsäurekristallen in großer Menge, daher auch das perlmutterähnliche Schillern der Stühle.

Die blasse Farbe der Fäzes rührt nicht vom Mangel an Gallenfarbstoff her, sondern von dem Umstand, daß nach van der Scheel das Bilirubin durch eine uns noch unbekannte Ursache zu farblosen Substanzen reduziert wird. In meinem Fall überzog sich der hellgelb entleerte Stuhl beim Stehen unter Luftzutritt sehr bald mit einer dunkelbraunroten Farbschicht, was für eine Oxydation des Leukobilin zu Bilirubin spricht.

Bezüglich des Magens sei erwähnt, daß er oft einen durchaus normalen Saft aufweist oder aber Achlor-, auch Hyperchlorhydrie zeigt.

Infolge der schlechten Nahrungsausnutzung treten in den Geweben dieselben Veränderungen ein, wie wir sie beim Hungerzustande beobachten. Nach und nach versiegen alle sekretorischen und zum Teil auch die vitalen Funktionen der Zellen, wodurch nach etwaigem Überwinden der Darmstörungen eine Genesung unmöglich wird. Es kann aber eine dauernde Atrophie der Mukosa resultieren, die ihrerseits ebenfalls zu einem ungünstigen Ausgang führt.

Welche Symptome bei einem ausgesprochenen Spruefall nun auf die Sprue an sich und welche auf diesen Zustand der Mukosaatrophie zurückzuführen sind, ist nicht immer leicht zu entscheiden.

Wenn die richtige Therapie nicht frühzeitig einsetzt, so führt die Erkrankung unaufhaltsam zum Tode durch hochgradige Abmagerung und Anämie.

Die Ätiologie der Sprue ist noch völlig unklar. Längerer Aufenthalt in den Tropen, meistens über 1 Jahr, ist für ihre Entstehung wohl unbedingt erforderlich. Sie schließt sich gewöhnlich einer anderen tropischen Verdauungserkrankung an, kann aber auch primär entstehen. Langdauernde schwächende Krankheiten wie Dysenterie, Diarrhöen, Morgendiarrhöen der Tropenländer, Syphilis, Malaria u. a. m. scheinen eine gewisse Disposition zu bieten. Auch beobachtet man gelegentlich während einer Gravidität oder im Anschluß an einen Abortus das Auftreten der Sprue.

Die verschiedensten Lebewesen: Anguillula stercoralis, Amoeba coli, Bacillus dysenteriae und viele andere Bazillen und Kokken sind als Erreger der Sprue angeführt worden, allein ihre Befunde waren nie konstant genug, um als ätiologisches Moment anerkannt zu werden.

Die Inkubationszeit muß bei der Sprue eine sehr lange sein. Aus vielen Beobachtungen geht hervor, daß selbst nach Jahren nach der Rückkehr aus den Tropen die ersten Symptome auftreten können. Rückfälle erlebt man ebenfalls fern von den Tropen nach mehreren Jahren besten Wohlbefindens.

Die Symptome dieser Erkrankung sind kurz folgende:

1. Unregelmäßigkeit der Stuhlentleerungen.

2. Gewaltig voluminöse, schaumige, blasse, schmierig aussehende Fäzes von ekelhaftem Geruch, oft perlmutterartig schillernd.

3. Empfindlichkeit der Zunge, der Mundschleimhaut, des Rachens und des Ösophagus, wobei wegen der ausgesprochenen Schmerzhaftigkeit der Schluckakt unmöglich werden kann.

4. Quälender Hunger.

Mit der Zunahme der Mundschleimhautveränderungen steigert sich die Zahl der diarrhoischen Stuhlentleerungen. Die Flatulenz nimmt zu; der Leib ist sehr stark aufgetrieben, er fühlt sich teigig weich an, die Bauchdecken selbst sind schlaff.

Die Haut ist trocken, erdfarben, mehr minder pigmentiert und faltig. Durch schwere dyspeptische Beschwerden wird der allgemeine Verfall noch beschleunigt. Im weiteren Verlauf treten deutliche Leberverkleinerung, starke Anämie, sehr erhebliche nervöse Reizbarkeit und Schlaflosigkeit auf. Bemerkenswert ist, daß fast alle Kranken über das Gefühl von Kälte in den Füßen und Beinen klagen.

Die Temperatur ist meistens normal oder leicht subnormal.

Das Blutbild zeigt eine relative Hyperleukocytose.

Im Urin läßt sich in fast allen Fällen Albumen nachweisen.

Die Krankheit kann nun einsetzen:

1. Schleichend, ohne erkennbare Ursache unter Schmerzhaftigkeit des Mundes. Es besteht eine starke Flatulenz, Unregelmäßigkeit des Stuhles, der vorwiegend diarrhoisch erfolgt und zwar nur in den Morgenstunden und die oben angeführten charakteristischen Eigenschaften aufweist. Unter Zunahme der Zahl dieser eigenartigen Entleerungen entwickelt sich das typische Bild der Sprue.

2. Ganz plötzlich, vielleicht nach einer Erkältung oder nach einer sonstigen Gelegenheitsursache, setzen unter heftigen Leibschmerzen profuse Diarrhöen ein. Mit den sich nun zeigenden Veränderungen an der Mundschleimhaut entwickelt sich das Bild der Sprue.

3. Nach Abheilung einer echten Dysenterie, die chronisch geworden war.

Unvollständige Spruefälle sollen in den angeführten Tropenländern sehr gewöhnlich sein. Sie zeichnen sich aus durch Schmerzhaftigkeit der Mundschleimhaut und Morgendiarrhöen, oder aber es besteht nur eine zur Kachexie führende aphthöse Erkrankung der Mundhöhle.



Wiederholte Anfälle von schmerzhaften Veränderungen im Munde bei Leuten, die in den Tropen gewesen sind, sollten stets den Verdacht auf Sprue wachrufen, damit die erforderliche diätetische Behandlung rechtzeitig eingeleitet werden kann.

Es gibt aber auch Fälle, bei denen keine Mundveränderungen vorliegen, die aber durch die starken Diarrhöen schnell einen schweren Kräfteverfall erleiden.

Die Prognose ist bei rechtzeitig und richtig eingeleiteter und streng durchgeführter Behandlung gut, doch muß man den Patienten stets auf die Gefahr der Rückfälle aufmerksam machen.

Der Arzt sollte sich stets ein Bild von dem Zustand des Verdauungstraktes vor Augen führen und entsprechend therapeutisch handeln. Zu Beginn der Behandlung gibt man zweckmäßig zweimal wöchentlich Ricinusöl teelöffelweise. Auch später, sobald gashaltige Stühle wieder auftreten, ist Ricinus zu verordnen. Ferner sorge man für Warmhaltung des ganzen Körpers besonders des Abdomens, für Bettruhe im warmen Zimmer, bis die Diarrhöen aufhören. Es darf dem Patienten nur warme Milch in 2 stündlichen Zwischenräumen gereicht werden, zweckmäßig mittels eines Glasrohres, um langsames Trinken zu erzielen. Im ganzen erhält der Patient täglich 1 bis $1^1/_2$ Liter. Führt diese Milchdiät nicht bald zum Sistieren der Durchfälle oder der schaumigen Stühle, so muß die Milchmenge reduziert werden bis auf $^1/_3$ Liter pro die. Ist die Konsistenz der Stühle fester geworden, so wird wieder nach 3 bis 4 Tagen langsam um $^1/_4$ Liter gestiegen bis auf 3 Liter. Treten wieder Diarrhöen auf, so geht man wieder zu kleineren Milchmengen über. Erst nach zwei Monaten (nicht früher) darf man vorsichtig etwas Brot und Eier verordnen.

Es hat sich nun gezeigt, daß Erdbeeren für die Spruebehandlung ungemein wichtig sind, sie sind fast ein Spezifikum und wirkten oft schon lebensrettend, selbst in sehr schweren Fällen. Anfangs reicht man dem Kranken zwei Erdbeeren dreimal täglich und steigt langsam bis auf mehrere Pfund, daneben behält man die Milchdiät bei.

Auch reine Obstkuren werden von van den Burg empfohlen, besonders solche Früchte, welche arm an Fasern, Kernen und Säuren sind.

Begg empfiehlt Santonin 0·3 in etwas Ol. olivar. jeden Morgen an sechs aufeinander folgenden Tagen, nachdem vorher Rizinusöl gegeben wurde.

Sorgfältige Mundpflege mit Borsäurelösung und Myhrrentinktur ist unbedingt erforderlich.

Statt Milch kann man sich peptonisierter Milch bedienen oder man geht zu Fleischsäften usw. über.



Gegen die in der Rekonvaleszenz eventuell auftretende Verstopfung leisten Kamilleneinläufe sehr gute Dienste.

Ich gehe nun zur Besprechung meines Spruefalles über:

Es handelt sich um eine 41jährige, verheiratete Dame, die am 22. VII. 1912 in die Sprechstunde kam und angab, daß sie seit ihrer Kindheit schwächlich gewesen sei und besonders an Magenbeschwerden gelitten habe, welche sich in Anfällen von bohrendem Schmerz im Epigastrium äußerten. Die Schmerzen traten 3 bis 4 Stunden nach dem Essen auf und kehrten 3 bis 4 mal im Jahre wieder. Es bestand dann stets ein starkes saures Aufstoßen. Vor 9 Jahren wurde sie wegen Appendizitis operiert, gleichzeitig wurde eine „Blutgeschwulst“ vom rechten Ovarium entfernt und Adhäsionen gelöst. Vor 7 Jahren Fehlgeburt.

Im Jahre 1906 kehrte sie nach längerem Aufenthalt in Porto Rico nach den Vereinigten Staaten zurück. Während ihres Aufenthaltes in Porto Rico erkrankte sie an Malaria, wurde mit kleinen Chinindosen behandelt und erholte sich erst nach längerer Zeit. Im Gegensatz zu ihrer Umgebung litt sie während ihres Aufenthaltes in Porto Rico nie an Diarrhöe, doch hatte sie des öfteren über eine wunde Zunge zu klagen. In den letzten 4 Jahren hatte sie dauernd mehr oder weniger Magenbeschwerden und hatte zeitweise 4 bis 5 Stunden nach dem Essen sehr heftiges und ausgiebiges Erbrechen, wobei zuletzt nur noch Galle erbrochen wurde.

Während dieser 4 Jahre bemerkte sie, daß die Mundschleimhaut, besonders nach Obstgenuß, vorwiegend aber nach Erdbeeren anfallsweise sehr wund und schmerzhaft wurde. Es pflegten dann kleine, sehr schmerzhafte Stellen an Zunge, Lippen und Zahnfleisch aufzutreten, die oft erst nach längerem Bestehen verschwanden. Derartige Anfälle haben sich regellos bis zum Tage der Aufnahme ins Krankenhaus wiederholt.

Als Patientin wegen einer im März 1912 erlittenen Fußverletzung das Bett hüten mußte, traten am 12. März, gerade während der hiesigen Erdbeersaison, ohne nachweisbare Ursache zum ersten Male heftige Diarrhöen auf, die bis zum Tage, an welchem ich die Dame zuerst sah, dauernd anhielten.

Die Durchfälle traten lediglich in den frühen Morgenstunden auf, es erfolgten oft bis zu 10 Entleerungen von frühmorgens bis etwa 2 Uhr mittags; während der Nacht sistierten dieselben ganz. Eigentliche Schmerzen bestanden nicht, doch waren der Kranken der starke Meteorismus und das Gurren im Leibe sehr lästig. Die ganzen Gedärme fühlten sich, wie die Patientin angab, wund an, und besonders dann traten stärkere Beschwerden auf, wenn der Darminhalt in das Rektum eintrat. Große Erleichterung brachten dann die meistens dünnbreiigen, oft aber dünnflüssigen Stuhlentleerungen, die unter Abgang reichlicher Blähungen erfolgten. Der Stuhl selbst war meistens von heller Farbe, breiig, schaumig und von ekelhaftem Geruch.

Sehr quälend war die starke Säurebildung im Magen und das häufige Aufstoßen großer Gasmengen.

Die Patientin hat bedeutend an Körpergewicht abgenommen, auch ist sie außerordentlich nervös geworden und vermag kaum eine große körper-



liche Unruhe zu unterdrücken. Neben einem oft sehr quälenden Juckreiz klagt die Kranke über heftige neuralgische Schmerzen in den Gliedern, verbunden mit lästigen Zuckungen. Auch geistige Depressionen stellen sich sehr häufig ein. Das schon oben erwähnte Symptom der Kälte in den Beinen und vorwiegend in den Füßen ist bei unserer Kranken sehr ausgeprägt.

Bemerkenswert ist, daß die Patientin von den verschiedensten Ärzten erfolglos behandelt worden ist und sogar in Baltimore wegen vermeintlicher Darmtuberkulose operiert werden sollte. Für letztere Diagnose sprechen ja auch verschiedene der angeführten Symptome.

Als ich die Frau zuerst im September 1912 in der Sprechstunde meines Associés, Dr. Lamson, sah, war sie ungemein schwach, konnte nur mühsam gehen und machte den Eindruck einer Schwerkranken.

Das Gesicht war blaß, von grauem Farbenton, die Haut trocken, welk, in großen Falten abhebbar. Der Ernährungszustand war stark reduziert (19 Pfund Untergewicht). Es bestand eine ausgesprochen nervöse Erregbarkeit und Druckempfindlichkeit der größeren Nervenstämme.

Die Zunge war rot, kaum belegt, sie zeigte an den Rändern einige kleine rote, recht schmerzhafte Makulae, von bis zu 2 bis 3 ^{mm} Durchmesser.

Herz und Lunge boten keine Besonderheiten. Der Puls betrug 84; die Temperatur $36 \cdot 5^{0}$ im Munde gemessen.

Das Abdomen war aufgetrieben, weich, tympanitisch, nirgends schmerzhaft. Ileocoecalgurren war stark ausgeprägt. Die Bauchdecken waren schlaffdünn, das Unterhautfettgewebe kaum nachweisbar.

Die Leberdämpfung war klein, die Milz nicht vergrößert.

Der Hämoglobingehalt betrug 50 Prozent (Sahli), die roten und weißen Blutkörperchen wiesen annähernd normale Werte auf.

Die Untersuchung des Magensaftes ergab:

Freie Salzsäure	28
Gesamte Azidität	52

Im Urin ließen sich pathologische Bestandteile nicht nachweisen.

Was nun den Stuhl betrifft, so war derselbe sehr voluminös, von üblem, saurem Geruch und von zahllosen kleinen und kleinsten Gasblasen durchsetzt. Die Farbe war dunkelbraun-rot, jedoch im Innern der größeren Skybala bedeutend heller, fast acholisch. Die äußere Schicht zeigte ein eigenartiges graphit- oder perlmutterartiges Schillern, verursacht durch die Unmenge von Fettsäurekristallen. An der Luft dunkelte der Stuhl nach. Chemisch war Blut nicht nachweisbar. Mikroskopisch fanden sich einzelne unverdaute Fleischfasern neben einer Unmenge Fettröpfchen und Fettsäurekristallen. Parasiteneier, Erythrozyten oder Eiter konnten nicht nachgewiesen werden. Auch wurden nach der Antiforminmethode keine Tuberkelbazillen gefunden, dagegen viele grampositive Bazillen.

Auf Grund dieser Befunde (aphthöse Erkrankung der Mundschleimhaut; eigenartige Stühle, deren Entleerung besonders in den frühen Morgenstunden erfolgte; starke Anämie mit Abmagerung und blaugraue Gesichtsfarbe) stellte ich die Diagnose Sprue.



Wir überwiesen die Kranke einem Hospital und nun folgte ein sehr wenig erfreuliches Ringen mit dieser Krankheit. Da die Dame wiederholt angab, gerade in der Erdbeerenzeit erkrankt zu sein, und daß Obst stets die Beschwerden steigerte, sahen wir von der so sehr gerühmten Erdbeerenbehandlung ab und versuchten zuerst mit Opium und Bismut nach vorheriger Rizinusbehandlung die Durchfälle zu beseitigen. Es wurde dann zur Milchdiät, langsam ansteigend, wobei auch einige geschlagene Eier gegeben wurden, übergegangen und strenge Bettruhe vorgeschrieben.

Der Erfolg dieser Behandlung war der, daß die Zahl der Entleerungen geringer wurde bis auf eine täglich. Als aber dann Verstopfung eintrat, mußten des öfteren wegen der durch diese verursachten ungemein heftigen Leibschmerzen Seifenklysmen gegeben werden.

Die Nervosität, die quälenden, neuralgischen Schmerzen in den Beinen bestanden fort, ebenso die Schlaflosigkeit, die Unruhe und das lästige Gefühl der Kälte in Beinen und Füßen. Phenacetin, Aspirin usw. vermochten diese Neuralgien nur wenig zu beeinflussen. Gegen die zeitweise auftretenden heftigen Schmerzen im Epigastrium erwiesen Senfteigkataplasmen sehr gute Dienste.

Als nun sehr schmerzhafte Eruptionen am After und in der Scheide auftraten, mehrten sich die Stuhlentleerungen wieder (3 bis 4 mal morgens), denen fast stets sehr heftiger Leibschmerz voranging. Es bestand gleichzeitig heftiges Aufstoßen.

Da die Patientin auf die Dauer Milch nicht mehr vertragen konnte, so wurde diese peptonisiert gereicht, worauf eine leichte Besserung zu verzeichnen war, so daß die besten Aussichten für eine rasche Heilung bestanden. Allein ein von der Patientin selbst verschuldeter Diätfehler (sie hatte sich Spargelsuppe geben lassen) führte zum sofortigen Auftreten langanhaltender voluminöser, schaumiger Stühle. Versuche mit $^1/_{10}$ Prozent Tannineinläufen mußten wegen der durch sie verursachten heftigen kolikartigen Leibschmerzen aufgegeben werden.

Es erfolgte nun eine erneute Eruption der aphthösen Schleimhautveränderungen im Munde, im Rektum und in der Vagina; das lästige saure Aufstoßen kehrte wieder; die Schwäche und die Nervenschmerzen steigerten sich; die Durchfälle nahmen beträchtlich an Zahl zu, dabei war der Leib stark aufgetrieben. Weiterhin stellte sich eine derartige Schmerzhaftigkeit des Ösophagus ein, daß jede Nahrungsaufnahme, die auch nur etwas Salz enthielt, nur unter heftigen Schmerzen erfolgen konnte. Der Zustand wurde sehr bedrohlich, und da die Zahl der Durchfälle sogar auf 17 pro die (in den ersten Morgenstunden) stieg, da entschlossen wir uns auf Drängen von Dr. Lamson zur Erdbeerentheraphie, d. h., es wurden anfangs nur zwei Beeren gereicht und langsam gesteigert.

Der Erfolg war verblüffend. Sofort besserten sich die Schleimhautaffektionen, der Stuhl wurde gebunden, es erfolgte schließlich jeden zweiten Tag eine normal aussehende Entleerung, und die Kranke konnte nach kurzer Zeit gebessert entlassen werden. Während der letzten Zeit ihres Spitalaufenthaltes gingen wir zu gemischter Kost über, so daß die Patientin vom 1. Dezember an fast jede Speiseform vertragen konnte, vorausgesetzt, daß Erdbeeren gereicht wurden.



Bei ihrer Entlassung zeigten die Fäzes eine normale Konsistenz, die Fleisch- und Stärkeverdauung war gut, die des Fettes wesentlich besser als zur Zeit der Aufnahme.

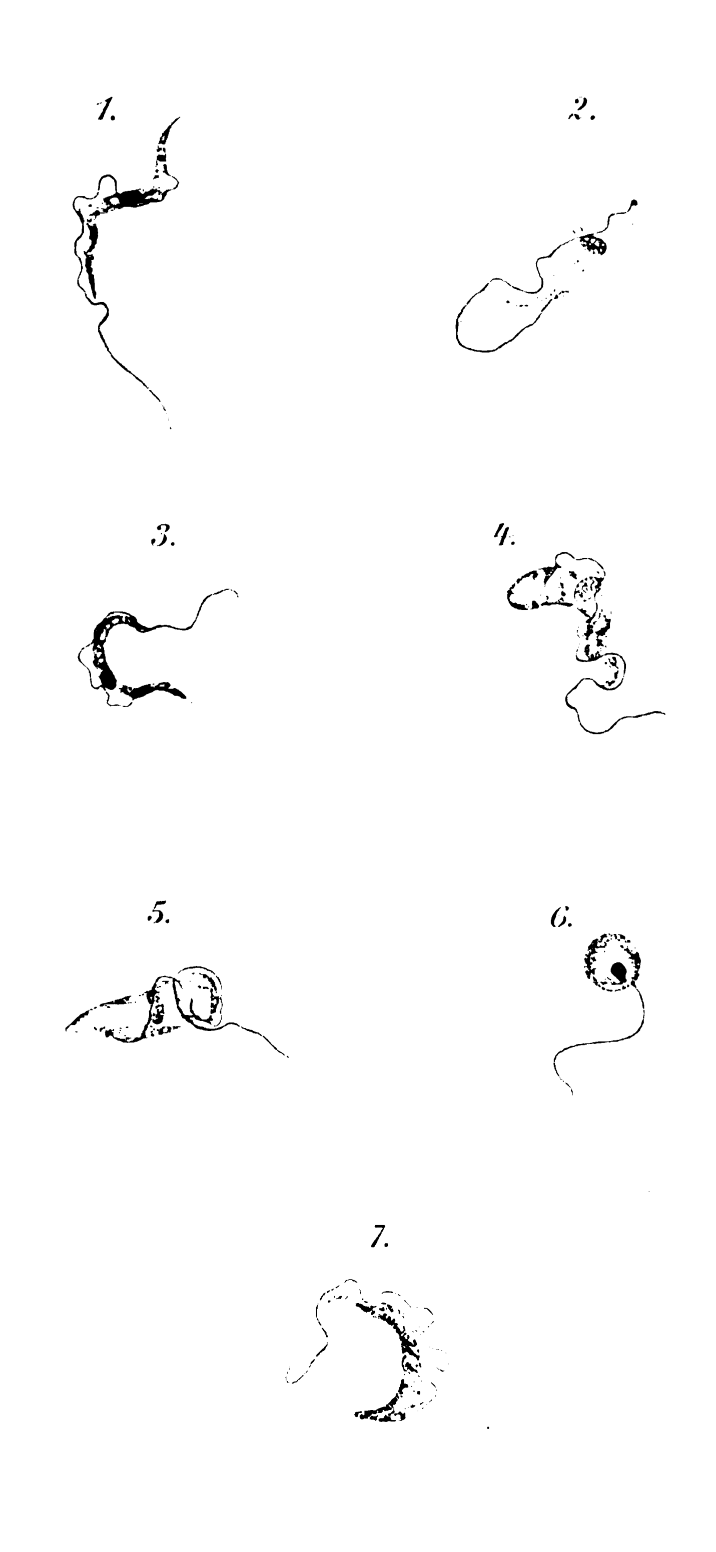
Hier zu Lande sind Erdbeeren bis Weihnachten leicht zu haben, und während dieser Zeit erfreute sich unsere Kranke besten Wohlbefindens. Eine kürzlich eingezogene Erkundigung besagt, daß die Patientin sich seit Januar in Kalifornien aufhält. Sie ist noch lange nicht außer Gefahr, stellen sich doch seit Januar (von Januar bis März sind frische Erdbeeren nicht zu haben) die schmerzhaften Mundaffektionen wieder ein. Pflege einer kranken Angehörigen und mehrfache Aufregungen in der Familie trugen dazu bei, daß unsere Patientin wiederum nervös geworden. Mangel an Schlaf und die Zunahme der nervösen Störungen sollen nach Mitteilung der Patientin das Auftreten der Magendarmstörungen wieder verursacht haben. Milch verursacht auch jetzt noch nach kurzer Zeit ein Wundsein der Zunge und saures Aufstoßen. In den letzten 14 Tagen ist im Anschluß an den Genuß frischen Gemüses und frischer Erdbeeren eine Besserung zu verzeichnen.

Interessant ist, daß eingemachte Erdbeeren in keiner Form, gleichviel, ob mit oder ohne Zucker zubereitet, dieselben Dienste zu leisten scheinen, wie die frischen. Es scheint also die für unsere Behandlung der Sprue wirksamste Substanz der Erdbeere nicht hitzebeständig zu sein. Natürlich werden wir versuchen, die Dame zu veranlassen, sich wieder einer strengeren Kur für längere Zeit zu unterziehen, doch verspreche ich mir von einem solchen Vorschlage in diesem freien Lande nicht viel.

Der obige Fall erinnert mich nun sehr lebhaft an einige Fälle, die ich während meiner Assistentenzeit am Eppendorfer Krankenhause zu Hamburg zu beobachten Gelegenheit hatte. Damals habe ich sie als Atrophie der Darmschleimhaut aufgefaßt, vorzüglich wegen der Fettstühle. Auch untersuchte ich wiederholt den Stuhl einer Dame, die mit einer Anämie aus Ostasien nach Hamburg zurückkehrte, und in welchem ich Anguillula stercoralis massenhaft fand. Der Stuhl war übelriechend und schaumig, von heller Farbe, so daß ich retrospektiv den Fall jetzt als Sprue auffassen möchte.

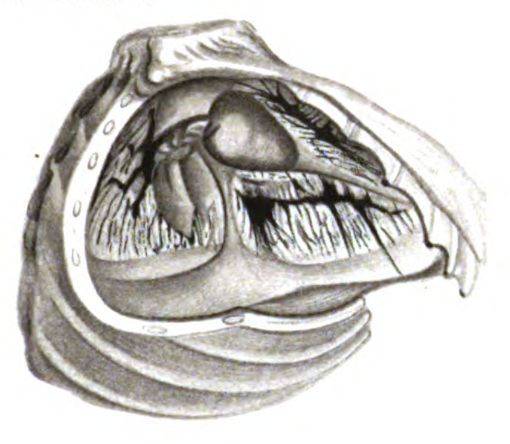
Ich glaube also, daß auch in Deutschland bei Leuten, die längere Zeit in den Tropen gelebt haben, des öfteren Fälle zur Beobachtung kommen dürften, die in dieser Krankheitsgruppe unterzubringen wären, und für diese Fälle bedeutet die richtige Diagnose und die folgende Behandlung alles. Die Veröffentlichung dieses Falles erscheint mir somit berechtigt.



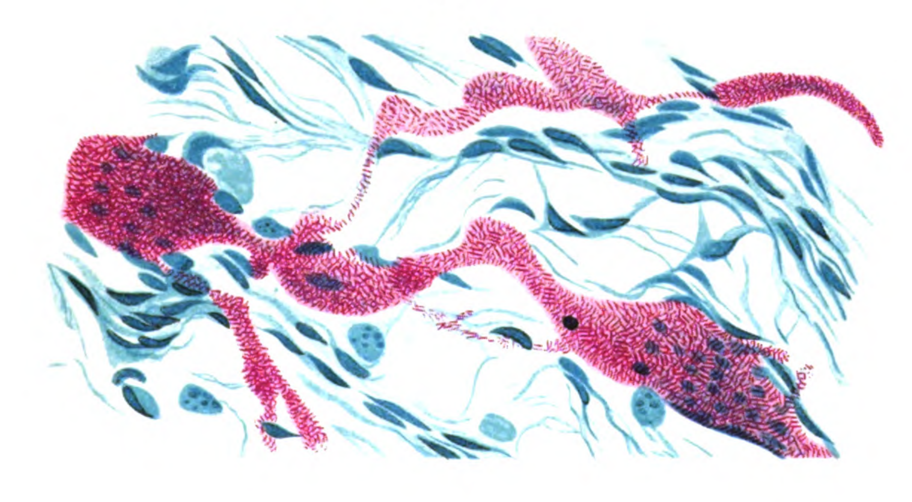


Verlag Veit & Comp. . . . .

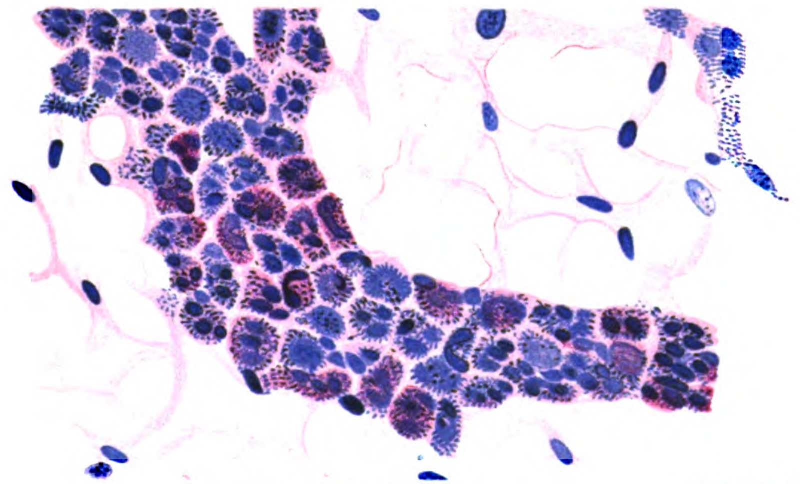
1.



2.



3.



Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

ST



12073



